UNIVERSITÉ DE STRASBOURG - FACULTÉ DE MÉDECINE DE STRASBOURG

ANNÉE 1963 *No 9*

THÈSE

PRÉSENTÉE

POUR LE DOCTORAT EN MÉDECINE

PAR

REVEL Michel

né à STRASBOURG (Bas-Rhin)

le 20 août 1938

Licencié-ès-Sciences

Assistant à l'Institut de Chimie Biologique de la Faculté de Médecine de Strasbourg

RECHERCHES SUR LA RÉGULATION DES CROISSANCES CELLULAIRES ROLE DE LA THYROIDE

PRÉSIDENT : M. P. MANDEL, Professeur

UNIVERSITÉ DE STRASBOURG - FACULTÉ DE MÉDECINE DE STRASBOURG

ANNÉE 1963 *N° 9*

THÈSE

PRÉSENTÉE

POUR LE DOCTORAT EN MÉDECINE

PAR

REVEL Michel

né à STRASBOURG (Bas-Rhin)

le 20 août 1938

Licencié-ès-Sciences

Assistant à l'Institut de Chimie Biologique de la Faculté de Médecine de Strasbourg

RECHERCHES SUR LA RÉGULATION DES CROISSANCES CELLULAIRES ROLE DE LA THYROIDE

PRÉSIDENT : M. P. MANDEL, Professeur

RIJKS
UNIV.
BIBLIOTHEEK
LEIDEN

FACULTE DE MEDECINE DE STRASBOURG

Doyen	MM. FONTAINE
Doyen honoraire	CALLOT
Assesseur	CALLOT

- PROFESSEURS TITULAIRES -

Anatomie	MEYER
Anatomie Pathologique	N...
Biologie Médicale	KLEIN
Chimie Biologique	MANDEL
Embryologie	CLAVERT
Histologie	ARON M.
Histologie	ARON Cl.
Hématologie	WAITZ
Hygiène et Bactériologie	TULASNE
Médecine Légale et Médecine Sociale	CHAUMONT
Parasitologie et Médecine Tropicale	CALLOT
Pharmacologie et Médecine expérimentale	SCHMID
Physiologie	KAYSER
Physiologie Appliquée	METZ
Physique Biologique	CHEVALLIER
Clinique Chirurgicale A	FONTAINE
Clinique Chirurgicale B	WEISS
Clinique Médicale A	WARTER
Clinique Médicale B	STAHL
Clinique Dermatologique	WORINGER
Clinique de Pédiatrie et Puériculture	SACREZ
Clinique Neurologique	THIEBAUT
Neurologie	ROHMER Fr.
Clinique Gynécologique et d'accouchement	BURGER
Clinique Ophtalmologique	NORDMANN
Clinique Oto-Rhino-Laryngologique	GREINER
Clinique de Pneumo-Phtisiologie	OUDET
Clinique Psychiatrique	KAMMERER
Pathologie Chirurgicale	JUNG
Chaire de Thérapeutique	METZGER
Chaire d'Electro-Radiologie	GROS
Pathologie Expérimentale	STEPHAN
Stomatologie	VEDRINE

- PROFESSEURS SANS CHAIRES -

Physiologie	MARX
Anatomie	WINCKLER
Anatomie Pathologique	LE GAL
Hygiène et Bactériologie	MINCK
Histologie	MARESCAUX
Hématologie	MAYER G.

- MAITRES DE CONFERENCES AGREGES -

MM. BATZENSCHLAGER
CHAMBON
CHAMBRON
KARLI
KIRN
KORITKE
LAVILLAUREIX
SCHNEIDER
VERMEIL
WEILL J.D.

- AGREGES -

MM. BOCKEL
BOLLACK
BRONNER
BURGHARD
CHAMPY
DORNER
FRANK
GANDAR
HOLLENDER
ISRAEL
JAHN
JUIF
KIENY
KLOTZ
LEVY J.M.
MANTZ
MARCOUX
MULLER J.N.
MULLER P.
SCHWARTZ
SIBILLY
WEILL J.P.
WITZ

- AGREGES LIBRES -

MM. BUCK, FORSTER, KUHLMANN D., KUNTZMANN, VOEGTLIN, BEYER.

- DIRECTEUR DE L'INSTITUT DENTAIRE -

M. VEDRINE

- CHARGES D'UN COURS D'ENSEIGNEMENT COMPLEMENTAIRE -

MM. MEHL J., METZGER O., MUGLER A., SINGER, MATHIS,
MMe MAYER S., MOISE.

- PROFESSEURS HONORAIRES -

MM. BARRE
BENOIT
HAMNS
KELLER
REDSLOB
ROHMER
ROEDERER
VAUCHER
VINTEMBERGER

La Faculté a arrêté que les opinions émises dans les dissertations qui lui sont présentées doivent être considérées comme propres à leurs auteurs, et qu'elle entend ni les approuver, ni les improuver.

SERMENT D'HIPPOCRATE

En présence des maîtres de cette école, de mes chers condisciples, je promets et je jure au nom de l'Etre Suprême d'être fidèle aux lois de l'honneur et de la probité dans l'exercice de la médecine. Je donnerai mes soins gratuits à l'indigent et n'exigerai jamais un salaire au-dessus de mon travail.

Admis dans l'intérieur des maisons, mes yeux ne verront pas ce qui s'y passe.

Ma langue taira les secrets qui me seront confiés et mon état ne servira pas à corrompre les moeurs, ni à favoriser les crimes.

Que les hommes m'accordent leur estime si je suis resté fidèle à mes promesses. Que je sois couvert d'opprobre et méprisé de mes confrères si j'y manque.

A LA MEMOIRE DE MA MERE

A MON PERE

A MA FEMME ET A MON FILS

A MES FRERES ET AUX MIENS

A NOTRE MAITRE

Monsieur le Professeur P. MANDEL

Il Nous a initié à la recherche biochimique et a guidé notre travail. Nous avons journellement éprouvé sa bienveillance et les idées qu'il nous inculquées nous ont formé à son école.

Conscient de tout ce que nous lui devons, nous le prions de trouver ici l'expression de notre profonde reconnaissance.

A MONSIEUR LE PROFESSEUR J. CLAVERT

qui nous a toujours témoigné
sa sympathie et nous fait l'honneur
de faire partie du jury de cette
thèse.

En hommage respectueux et sincère.

A MONSIEUR LE DOCTEUR J.D. WEILL
Maître de Conférences Agrégé

Depuis notre entrée au laboratoire, nous avons bénéficié de son savoir, de son esprit critique et de son amitié.

Qu'il veuille trouver ici des sentiments de profonde admiration.

A MONSIEUR LE DOCTEUR P. CHAMBON
Maître de Conférences Agrégé

Il a su nous faire profiter de son expérience, de sa grande connaissance des problèmes biochimiques et de son enthousiasme.

Nous espérons qu'il acceptera l'expression de notre déférente amitié.

AVANT - PROPOS

Ce travail a été réalisé à l'Institut de Chimie Biologique sous la direction du Professeur P. Mandel. Il s'inscrit dans le cadre des recherches sur la biochimie des acides nucléiques auxquelles ce laboratoire s'est en partie consacré.

Nous avons eu la grande de joie de pouvoir réaliser une partie de ces expériences avec Melle Claire Banner, Licenciée ès-Sciences, qui est devenue notre épouse. Son enthousiasme pour la recherche scientifique nous a toujours soutenu et ses études dans le cadre du 3ème cycle de physico-chimie macromoléculaire nous ont facilité l'accès de la biologie moléculaire.

Nous tenons à remercier Madame L.Mandel, Docteur en Médecine, Docteur ès-Sciences, qui nous a accueilli à notre arrivée au laboratoire. Qu'avec elle, soient remerciés tous les membres de cet Institut et qu'ils soient assurés de notre sincère amitié.

Nos pensées vont enfin à notre frère, le Docteur J.P. Revel, Ph.D., Associated Professor à l'Université de Harvard (USA) qui nous a précédé dans le laboratoire du Professeur Mandel et qui a été à l'origine de notre vocation scientifique.

I N T R O D U C T I O N

La connaissance des mécanismes de régulation de la croissance cellulaire est devenue un des problèmes essentiels de la recherche biologique en matière de cancérologie. C'est dire son importance pour le biochimiste comme pour le médecin. Les recherches dans ce domaine nécessiteraient, pour être menées dans les meilleures conditions, une étude préalable de tous les systèmes enzymatiques présents dans la cellule. Une telle étude rencontre des difficultés matérielles qui la rendent irréalisable dans l'état actuel de la biochimie. Le seul moyen d'aborder ces problèmes reste donc l'analyse des effets globaux de certains facteurs qui modifient la croissance cellulaire.

Parmi ces facteurs, alimentaires, hormonaux, pharmacologiques, nous avons retenu la sécrétion thyroïdienne dont on connaît l'action très importante sur le développement de tous les vertébrés. En effet, à côté des perturbations énergétiques (MAGNUS-LEVY, 1895 - PLUMMER, 1921), qui se traduisent par les modifications connues du métabolisme basal, la thyroïde contrôle la croissance et la maturation des divers tissus. Les preuves de cette action abondent dans la littérature médicale de ces 70 dernières années. Le nanisme myxoedémateux attira le premier l'attention des

chercheurs. Du point de vue expérimental, la certitude de l'action hormonale ne fut acquise qu'après les travaux de CAMERON et CARMICHAEL (1920), utilisant pour la première fois la thyroxine cristallisée par KENDALL en 1915. Ces auteurs purent montrer que l'administration de thyroxine par voie orale à raison de 2-5 mg par jour provoquait une hypertrophie morphologique et pondérale des divers organes du rat : coeur, foie, reins... La croissance globale de l'organisme est inhibée par les doses excessives de thyroxine employées. Rappelons que cet effet toxique de l'hormone peut être évité par une vitaminothérapie et une opothérapie adéquates (ERSHOFF, 1947 - EMERSON et Coll., 1956). Ceci peut expliquer les contradictions dans les premiers travaux publiés. Il ne fait plus de doute depuis les expériences de ROWLANDS (1945) que la fonction thyroïdienne représente un facteur essentiel pour la croissance. L'effet de la thyroxine aboutit à la différenciation cellulaire. Ceci est abondamment illustré aussi bien par les travaux sur l'ossification et le développement des organes chez les mammifères que par l'étude de la métamorphose des batraciens (voir une revue récente dans PITT-RIVERS et TATA, 1959).

L'action que la thyroxine exerce par ailleurs sur le métabolisme de la cellule nous a donné l'espoir d'élucider les mécanismes qui contrôlent le développement d'un tissu par la confrontation entre les deux effets de l'hormone. La thyroxine cristallisée du commerce, d'un maniement aisé, possède du point de vue technique un avantage évident sur

les autres "hormones de croissance". L'existence des anti-thyroïdiens de synthèse et la facilité avec laquelle on peut réaliser une thyroïdectomie complète font de la thyroïde un instrument remarquable pour l'étude de la croissance.

Nous avons utilisé pour nos recherches le rein du Rat car avec cet organe nous disposons d'un système permettant l'étude comparative d'un tissu adulte et d'un tissu en prolifération. La néphrectomie unilatérale détermine en effet dans le rein restant un phénomène d'hypertrophie dite compensatrice qui permet à cet organe d'assurer à lui seul la fonction de deux reins. Ce phénomène a une importance considérable car il s'agit d'une reprise de la croissance par un tissu adulte et différencié. Il est plus avantageux que la régénération hépatique car il permet une comparaison quantitative plus rigoureuse entre le rein hypertrophié et le rein normal grâce à la connaissance de l'état du rein enlevé qui sert de témoin. Pour la régénération hépatique, une telle comparaison est plus difficile car on ne peut évaluer exactement la quantité de tissu hépatique resté dans l'animal ni tenir compte des perturbations vasculaires et des conséquences qu'elles entraînent par suite de l'opération. En plus les données acquises dans notre laboratoire (MANDEL, 1955) sur l'hypertrophie rénale compensatrice (HRC) nous autorisait d'emblée à entreprendre l'étude des problèmes de la fonction thyroïdienne en relation avec l'HRC.

Pour élucider un mécanisme de régulation de la croissance il faut d'abord connaître les phénomènes fondamentaux qui dominent cette croissance. Il est évident que la synthèse des protéines, tant du point de vue quantitatif que du point de vue qualitatif, intervient d'une façon majeure. Rappelons en effet que tous les enzymes sont des protéines et les protides représentent le constituant principal de la cellule, l'eau exceptée. Les dernières années ont été particulièrement riches en travaux sur la synthèse protéique. Le rôle des acides nucléiques (AN) y est apparu de plus en plus important (voir discussion générale). Aussi pour compléter et étendre, à l'aide de techniques biochimiques, les travaux publiés au courant des dernières années, notamment les travaux histologiques de HERLANT (1949), nous avons repris l'étude de l'effet des hormones thyroïdiennes sur les protéines et les AN du rein.

Nos recherches personnelles seront présentées en deux chapitres. Dans le premier, nous décrirons l'effet de l'hyperthyroïdie, dans le secon l'effet de l'hypothyroïdie. Enfin dans la discussion générale de notre étude, nous tenterons de donner une interprétation des faits expérimentaux à la lumière des récents développements de la Biochimie.

M E T H O D E S E T T E C H N I Q U E S

A. CHOIX DES ANIMAUX.

Nous avons utilisé pour notre étude des rats blancs adultes de souche Wistar (4 mois) et d'un poids moyen de 200 g. Les rats, élevés dans notre laboratoire, sont issus de croisements répétés entre frères et soeurs. Les comparaisons sont toujours faites entre des animaux provenant de lots très homogènes.

Pendant la durée des expériences, les rats ont été nourris avec du Ratigène (Alimentation Equilibrée, Commentry) auquel est ajouté tous les deux jours 1 ml d'une solution de vitamines contenant :

Vitamine A	2500 U.I.
" B_1	1, 3 mg
" B_2	0,75 mg
" PP	2,50 mg
" B_6	1 mg
Panthénol	2 mg
Vitamine C	25 mg
" D_2	500 U.I.
" E	1 mg

L'eau est donnée ad libidum.

B. CONDITIONS EXPERIMENTALES.

1) Etude de l'hyperthyroïdie.

Dans une première série d'expériences, nous avons pratiqué un traitement hormonal prolongé et mesuré l'incorporation du phosphore radioactif dans l'acide ribonucléique (ARN). Chaque essai a porté sur 4 rats : 2 d'entre eux ont servi de témoins et 2 ont reçu 1 mg de thyroxine Roche (1 ml) par jour pendant 5 jours. Vingt quatre heures avant le sacrifice tous les rats ont reçu 300 µc de ^{32}P pour 100 g de poids corporel par la voie intramusculaire. L'injection de l'isotope qui se fait sous forme de phosphate de Na, représente un apport négligeable de phosphate. La dose de radioactivité administrée ne provoque aucun trouble chez le rat.

Dans une deuxième série expérimentale, nous avons utilisé 12 rats répartis en 3 lots. Dans chaque lot, 2 animaux ont reçu à 6 heures d'intervalle deux fois 1 mg de thyroxine et ont été sacrifiés 6 heures après la dernière injection. Le $^{32}PO_4$ a été administré aux animaux témoins et aux animaux traités 12 heures avant le sacrifice, soit en même temps que la première injection de thyroxine.

2) Etude de l'hypothyroïdie.

Vingt quatre rats mâles adultes ont été répartis en 3 lots homogènes. Dans chaque lot, 4 animaux ont été thyroïdectomisés et ont reçu 10 jours après l'opération une injection intrapéritonéale de 100 µc de radioiode. Après un nouveau délai de 10 jours, une seconde dose de ^{131}I est

administrée dans les mêmes conditions.

L'effet de la thyroïdectomie et du traitement par l'iode radioactif a été étudié entre le 10 et le 18ème jour suivant la dernière injection d'iode soit 4 à 5 semaines après l'opération, par comparaison avec des animaux normaux. Nous avons recherché dans chaque lot l'évolution de la teneur du rein en protéines et en ARN. Pour apprécier le renouvellement de l'ARN, nous avons mesuré l'incorporation du radiophosphore dans les ribonucléotides 24 heures après l'injection intramusculaire de 300 µc de ^{32}P pour 100 g de poids corporel. Pour déterminer l'influence de l'absence d'une sécrétion thyroïdienne sur l'hypertrophie rénale nous avons mesuré dans les conditions indiquées le renouvellement de l'ARN 26 heures après une néphrectomie contrelatérale. Enfin nous avons évalué les variations du taux des protéines, de l'ARN et de l'ADN dans le rein restant 12 jours après une néphrectomie par rapport au rein prélevé au cours de cette opération, d'une part chez les animaux thyroïdectomisés et traités à l'iode radioactif, d'autre part chez les animaux témoins.

C. <u>LA THYROÏDECTOMIE RADIO-CHIRURGICALE</u>.

Dans un premier temps l'ablation chirurgicale de la glande est faite selon INGLE et GRIFFITH (1949). Il faut prendre un soin particulier pour éviter de détruire le nerf récurrent ou de supprimer les quatre parathyroïdes qui ont des rapports anatomiques très étroits avec le corps thyroïde.

Dans un deuxième temps, nous avons utilisé l'iode radioactif ^{131}I pour assurer la destruction in situ du tissu thyroïdien resté après l'opération. L'injection de ^{131}I a été faite au moment où l'activité de ces débris tissulaires et des éventuels ilots ectopiques est maximale, c'est-à-dire vers le 10ème jour qui suit la thyroïdectomie, ce qui assure une fixation importante de l'isotope et une destruction totale de ces cellules. La faible dose d'iode radioactif injectée, 100 µc pour un rat, la rapide élimination de ce composé, environ 60 p.100 après 48 heures et la fixation élective sur le tissu thyroïdien, excluent une action de ^{131}I sur le reste de l'organisme.

D. LA NEPHRECTOMIE.

La technique utilisée est celle de MANDEL (1955).

E. ISOLEMENT DES ACIDES NUCLEIQUES DU REIN.

Les animaux sont tués par décapitation et les reins prélevés après décapsulation sont rapidement réfrigérés, puis pesés et analysés. Les dosages et les déterminations d'activité spécifique ont été effectués selon une technique dérivée de SCHMIDT et THANNHAUSER (1945), et qui comporte trois stades.

1) Une élimination des composés phosphorés acido-solubles par l'acide trichloracétique à 7 p.100 ou l'acide perchlorique à 6 p.100 suivie de lavages répétés du résidu par le même acide, l'eau puis l'alcool, toutes les manipulations s'effectuant à 0°C.

2) Une extraction des lipides successivement par l'alcool puis l'éther bouillant. Ce traitement peut se faire également dans l'appareil de Kumagawa, construit sur le principe du tube de Soxleth. Le résidu de cette opération (RKG) est séché et pesé. Cette valeur est utilisée comme mesure de la quantité des protéines tissulaires avec une approximation qui sera discutée plus loin.

3) Une hydrolyse du résidu d'extraction trichloracétique et lipidique (RKG) par la potasse N/2 à 37°C pendant 18 heures. Dans ces conditions l'ARN est hydrolysé en 2'3'nucléoside monophosphate acido-soluble ; au contraire l'ADN reste sous forme d'oligonucléotides acido-insolubles. L'addition de 0,14 volume d'acide perchlorique à 65 p.100 précipite l'ADN et les protéines alors que les ribonucléotides restent en solution.

F. DOSAGES DES ACIDES NUCLEIQUES ET DETERMINATION DE LEUR RADIOACTIVITE.

En vue de la détermination de l'ADN, la fraction acido-insoluble de l'hydrolysat alcalin est traitée par l'acide perchlorique à 90°C pendant 30 minutes. Ce traitement achève l'hydrolyse de l'ADN qui est alors dosé par la méthode de DISCHE (1930). Cette extraction à l'acide perchlorique n'est d'ailleurs pas indispensable.

En ce qui concerne l'ARN, on dose les trois constituants des ribonucléotides, à savoir le phosphore par la méthode de MACHEBOEUF et DELSAL (1943) après minéralisation sulfonitrique, le ribose par la méthode de MEJBAUM (1939) utilisant

l'orcine, et enfin par l'intensité de l'absorption dans l'ultra-violet à 2600 Å qui permet d'évaluer la teneur en base. La correspondance entre ces trois valeurs, qui sur une solution de ribonucléotides devrait être parfaite, n'est pas réalisée avec cette préparation. Celle-ci est en effet contaminée par la présence de composés phosphorés non nucléiques : phosphates des phosphoprotéines et phosphopeptides des phosphatidopeptides.

Comme la détermination de l'activité spécifique de l'ARN nécessite avant tout la pureté de l'échantillon dosé il faut éliminer ces composés. Nous avons mis au point une technique de purification des ribonucléotides par adsorption sur une colonne de charbon Activit préalablement traitée au phénol (WEILL, 1958). Le charbon ne retient que les composés possèdant un groupement cyclique non saturé. Seuls les nucléotides et éventuellement certains peptides renfermant des acides aminés cycliques remplissent cette condition dans la préparation utilisée, ils restent donc fixés sur la colonne de charbon. Après lavage pour éliminer toute trace des composés non adsorbés, l'élution est réalisée par 100 ml d'un mélange d'alcool et d'ammoniaque (50 volumes d'alcool à 95° ; 10 volumes d'ammoniaque à 20 p.100 et 40 volumes d'eau). L'éluat est évaporé et les nucléotides sont repris par HCl N/100. Après cette purification la correspondance entre phosphore, ribose et base est satisfaisante. La détermination de la radioactivité est alors effectuée au compteur cloche de Geiger-Muller avec une fenêtre en mica de 1,8 mg/cm^2.

Nous mesurons également la radioactivité des ions phosphates minéraux présents dans la fraction acido-soluble du tissu rénal. Les phosphates sont précipités par une mixture magnésienne en milieu ammoniacal ($ClNH_4$ 2 M et Cl_2Mg 0,5 M, NH_4OH, 200 ml/litre), sous forme de phosphates ammoniacaux magnésiens. Pour être satisfaisante, la précipitation doit se faire pendant 48 heures à 0°C. Après centrifugation le culot est lavé à l'eau ammoniacale à 5 p.100 puis traité par l'HCl à 100°C pendant 15 minutes. La teneur en phosphore minéral et la radioactivité sont évaluées par les méthodes indiquées.

G. JUSTIFICATION DES METHODES EMPLOYEES.

La méthode de purification des ribonucléotides sur colonne de charbon doit avant tout fournir un échantillon dans lequel on ne trouve pas de phosphore non nucléotidique. Il faut également que l'élution soit quantitative. Si une partie des nucléotides reste attachée sur la colonne, l'évaluation de l'ARN et la mesure de son activité spécifique risquent d'être faussées.

Dans le tableau 1 sont représentés quelques exemples de purification sur charbon qui montrent que la récupération des nucléotides est bonne et que la correspondance entre les valeurs obtenues par le dosage du phosphore et par celui du ribose est satisfaisante après la purification.

Dans la détermination de la quantité d'ARN, nous avons tenu compte de la valeur du ribose dans la fraction acido-soluble de l'hydrolysat de SCHMIDT et THANNHAUSER.

TABLEAU 1

PURIFICATION DES RIBONUCLEOTIDES SUR COLONNE DE CHARBON

N° Exp.	Hydrolysat de Schmidt et Thannhauser		Effluant	Eluat		p. 100	
	P* a	ribose* b	P* c	P* d	ribose* e	$\frac{e}{b}$	$\frac{c+d}{a}$
I	15,0	11,0	5,6	10,2	9,9	90	105
II	13,4	11,2	4,2	10,0	10,3	92	106
III	15,8	10,3	6,2	10,8	9,9	96	107
IV	16,3	9,4	5,3	9,7	9,4	100	98

*Les valeurs sont exprimées en micromoles de nucléotides par rein.

Nous avons signalé que la mesure de la teneur en protéines se faisait par la pesée du RKG. En effet, le tissu une fois débarrassé des composés acido-solubles et des lipides ne renferme plus que les protides et les AN. Il apparaît clairement par les valeurs expérimentales (tableau 2) que la quantité d'AN présent dans le rein ne dépasse pas 5 p.100 du taux des protéines. Nous pouvons donc assimiler avec suffisamment de précision le RKG à la masse protéique de l'organe.

H. EXPRESSION DES RESULTATS.

Les taux d'ARN et d'acide désoxyribonucléique (ADN) sont exprimés en micromoles de nucléotides. L'activité spécifique de l'ARN est le rapport :

$$\frac{\text{nombre de coups par minute}}{\text{nombre de micromoles de nucléotides}} = \text{A.S. ARN}$$

c'est donc l'activité incorporée par microatome de phosphore.

L'activité absolue est la radioactivité incorporée dans l'ensemble du phosphore nucléique d'un rein ou d'un gramme de tissu rénal ; on la calcule en multipliant l'activité spécifique (A.S.) par la quantité de phosphore exprimée en microatomes.

Le plus souvent nous avons divisé ces activités par celle du PO_4 minéral du même échantillon. On obtient alors l'activité spécifique relative (ASR) ou l'activité absolue rapportée au PO_4. Ceci permet de tenir compte des différences éventuelles entre les lots d'animaux quant à la vitesse de résorption et d'élimination du $^{32}PO_4$.

RECHERCHES PERSONNELLES

CHAPITRE I

L'action sur le rein des hormones thyroïdiennes et notamment de la thyroxine est connue depuis longtemps. Dès 1913 ISCOVESCO a décrit l'effet d'un lipoïde extrait de la glande thyroïde sur la croissance des organes du Lapin. Le poids du coeur, de la rate, du rein et du foie augmentait notablement chez les animaux traités. D'autres études (HOSKINS, 1916 - HEWITT, 1920 - CAMERON et CARMICHAEL, 1920 - McKAY, SMITH et CLOSS, 1933 - WALTER et ADDIS, 1939) ont montré que l'administration de thyroxine ou de poudre de thyroïde à des doses convenables provoquait un accroissement du poids des reins chez le Chien et chez le Rat. Une hypertrophie de toutes les parties de la cellule ainsi qu'une augmentation du nombre des mitoses a été observée dans le rein et le foie par KORENCHEVSKY et HALL, 1944). Dans notre laboratoire , MANDEL, MANDEL et JACOB (1951) ont relevé un accroissement de la quantité d'ARN dans divers organes du rat après administration de thyroxine. L'injection journalière de 1 mg de thyroxine pendant 15 jours aboutit dans le rein à une majoration importante du poids, de la quantité d'azote protéique, de l'ARN et de l'ADN. Ces observations ont un grand intérêt

car il s'agit d'une reprise dans un organe adulte d'un phénomène semblable à celui de la croissance.

Pour comprendre le mécanisme des phénomènes évoqués, il nous a semblé intéressant de rechercher quel était, parmi ces composés, le premier modifié par l'action de la thyroxine. Nous nous sommes plus particulièrement orienté vers l'ARN dont le rôle fondamental dans la synthèse des protéines cellulaires et donc dans la croissance est connu depuis BRACHET (1941) et CASPERSSON (1941).

Afin de pouvoir déceler une variation précoce dans le métabolisme de l'ARN nous avons étudié l'incorporation du phosphate radioactif ($^{32}PO_4$) dans cet AN.

RESULTATS EXPERIMENTAUX.

Lorsque la thyroxine est injectée pendant 5 jours à raison de 1 mg par animal, par jour, on constate (tableau 2) un accroissement net de certains constituants du tissu rénal. Le poids du rein augmente légèrement, la teneur en protéines s'élève de 19 et 34 p.100 et l'ARN de 29 et 43 p.100 respectivement pour chacune des deux expériences. La variation de l'ADN est du même ordre de grandeur que celle de la masse de l'organe. Si l'on examine l'incorporation du $^{32}PO_4$ (tableau 3) on constate un net accroissement de l'activité absolue de l'ARN : + 56 et + 48 p.100. Cette augmentation s'explique en partie par la hausse de la quantité d'ARN rénal. Il existe cependant une stimulation nette de l'entrée du $^{32}PO_4$

TABLEAU 2

EFFET DE LA THYROXINE SUR LES PROTEINES ET LES ACIDES NUCLEIQUES DU REIN

Traitement de 5 jours

	N° Exp.	Témoins	Thyroxinés	Différence p. 100
Poids d'un rat g	1	215	220	
	2	272	260	
Poids d'un rein g	1	0,804	0,812	+ 1
	2	0,951	1,220	+28
Protéines un rein mg	1	111,0	132	+19
	2	136,5	183	+34
ARN un rein µM Nt	1	11	14,2	+29
	2	12	17,1	+43
ADN un rein µM Nt	2	10,1	11,5	+14

Nt : nucléotides

TABLEAU 3

EFFET DE LA THYROXINE SUR L'INCORPORATION DU $^{32}PO_4$ DANS L'ARN

Traitement de 5 jours

	N° Exp.	Témoins	Thyroxinés	Différence p. 100
A.S. PO_4 minéral c.p.m./μ At.P	1	16.000	13.200	-18
	2	13.600	12.700	- 7
Activité absolue ARN c.p.m. incorporés dans ARN un rein	1	24.700	38.600	+56
	2	25.800	38.200	+48
A.S.R. ARN x 100	1	33,6	41,0	+22
	2	31,0	34,0	+10
A.S.R. P non nucléotidique x 100	1	54,0	62,0	+26
	2	35,5	55,5	+57

A.S. : activité spécifique
A.S.R. : activité spécifique relative
c.p.m. : coups par minute

dans l'AN ainsi que le montre la majoration de l'A.S. du phosphore ribonucléique. Dans le tableau 3 figurent également les A.S. des composés phosphorés non nucléotidiques présents dans l'effluat des colonnes de charbon. On remarque que leur A.S. est supérieure à celle du P ARN et que l'accroissement par suite de l'injection de thyroxine dépasse également celui observé pour l'ARN. Ceci confirme la nécessité de purifier le matériel nucléique avant de procéder à des déterminations de radioactivité. De toute manière, ce résultat indique que la thyroxine agit également sur le métabolisme des protéines et notamment des phosphoprotéines. Enfin, l'A.S. des ions phosphates minéraux est légèrement inférieure chez les animaux traités, fait que nous discuterons ultérieurement.

On constate ainsi dans cette première série d'expériences une augmentation des constituants protéiques et nucléiques du rein ainsi qu'une hausse de l'A.S. de l'ARN. Dans une seconde série expérimentale nous avons administré la thyroxine pendant un délai plus court, 12 heures. On note (tableau 4) à ces brefs délais l'absence de toute augmentation du poids, des protéines ou des AN. Par contre (tableau 5) la quantité totale de $^{32}PO_4$ incorporée dans l'ARN est accrue de 29 p.100 en moyenne par unité de poids. De même l'A.S. de l'ARN est augmentée de 24 p.100 en moyenne. L'A.S. des ions phosphates minéraux, bien plus élevée 12 heures après l'injection de l'isotope qu'après 24 heures, n'est pratiquement

TABLEAU 4

EFFET DE LA THYROXINE SUR LES PROTEINES ET LES ACIDES NUCLEIQUES DU REIN

Traitement de 12 heures

	N° Exp.	Témoins	Thyroxinés	Différence p. 100
Poids d'un rat g:	3	230	217	
	4	187	182	
	5	233	268	
Poids d'un rein g:	3	0,867	0,897	+ 4
	4	0,793	0,726	- 8,5
	5	1,055	0,911	-14
Protéines un rein mg	3	131,6	130,7	- 1
	4	119,5	104,5	-12
	5	137,4	144,5	+ 5
ARN un rein µM Nt	3	9,8	9,9	+ 1
	4	8,4	7,8	- 8
	5	10,4	10,7	+ 3
ADN un rein µM Nt	3	7,6	7,5	- 1
	4	8,6	7,6	-11
	5	6,6	5,8	-12

Nt : nucléotides

TABLEAU 5

EFFET DE LA THYROXINE SUR L'INCORPORATION DU $^{32}PO_4$ DANS L'ARN

Traitement de 12 heures

	N° Exp.	Témoins	Thyroxinés	Différence p. 100
A.S. PO_4 minéral c.p.m./µ At.P	3	40.500	38.700	- 5
	4	42.500	42.000	- 1
	5	59.000	53.000	-10
Activité absolue ARN c.p.m. incorporés dans ARN un rein	3	147.000	181.000	+23
	4	102.000	126.500	+24
	5	146.500	196.000	+34
A.S.R. ARN x 100	3	24,4	30,8	+32
	4	18,9	21,5	+16
	5	24,3	28,3	+16
A.S.R. P non nucléotidique x 100	3	24,0	39,8	+65
	4	31,4	43,0	+38
	5	24,0	31,6	+31

A.S. : activité spécifique
A.S.R. : activité spécifique relative
c.p.m. : coups par minute

pas modifiée chez les animaux traités par l'hormone thyroïdienne.

Nous pouvons donc conclure que 12 heures après le début du traitement hormonal, la quantité de $^{32}PO_4$ incorporée par µAt de phosphore ribonucléique est plus élevée chez les animaux traités que chez les témoins.

DISCUSSION.

L'effet de la thyroxine sur le rein se traduit par une augmentation du poids de l'organe, de la quantité de protéines, d'ARN et d'ADN. La localisation uniquement intranucléaire de l'ADN dans les cellules de mammifères permet d'établir une relation directe entre la quantité d'ADN et le nombre de noyaux cellulaires, en admettant que l'on n'a pas de phénomène de polyploïdie. L'ARN par sa localisation essentiellement cytoplasmique (90 p.100) et sa relation étroite avec les synthèses protéiques est un bon critère de la masse cellulaire. Ceci ressort notamment des travaux de BRACHET (1947), CASPERSSON (1947), DAVIDSON (1947), MIRSKY (1947), BOIVIN (1948) et de MANDEL et Coll. (1948, 1950). Les phénomènes que nous avons constatés représentent donc une hypertrophie cellulaire et une hyperplasie tissulaire qui correspondent à une véritable reprise de la croissance d'un organe pourtant adulte. Cette croissance se produit très précocément après le début du traitement hormonal et se stabilise très rapidement. En effet l'intensité maximum de l'hypertrophie est atteinte dès le 5ème jour. Au bout de 15 jours

MANDEL, MANDEL et JACOB (1951) ne constatent pas dans le rein d'augmentation de l'ARN supérieure à celle que nous observons dans les expériences 1 et 2.

L'utilisation du phosphore radioactif permet de saisir des modifications métaboliques dans le rapport des synthèses et des dégradations de l'AN avant qu'elles n'aboutissent à une néosynthèse nette, mesurable et significative de ce composé.

La méthode de dosage de l'ARN que nous avons utilisée nous met à l'abri, grâce à la purification sur colonnes de charbon, de contaminations par des composés phosphorés non nucléiques.

Le $^{32}PO_4$ dont nous mesurons l'incorporation est indubitablement présent dans l'ARN. La quantité d'isotope retenue dans chaque molécule au moment du sacrifice de l'animal est une fonction de la vitesse de renouvellement de cette molécule. Les connaissances actuelles des mécanismes de la biosynthèse des ARN ne sont pas assez avancées pour permettre de comprendre pleinement ce phénomène. Le phosphore incorporé dans l'ARN doit nécessairement être présent dans le radical phosphoryle en position α dans le nucléotide précurseur. La synthèse de ce précurseur peut se faire à partir des ions PO_4 minéraux soit par l'intermédiaire du phosphoribosyl-pyrophosphate (PRPP) (KORNBERG et Coll., 1955), soit par phosphorylation du nucléoside correspondant (KALCKAR, 1947). Une augmentation de l'A.S. de l'ARN tissulaire peut être due ainsi à plusieurs facteurs. Il peut s'agir d'un accroissement

de la synthèse du polynucléotide et de ses précurseurs sans modification du catabolisme -dans ce cas on assistera à une hausse de la quantité absolue d'ARN ; on peut également se trouver en présence d'une accélération de la dégradation sans variation de la synthèse- la quantité d'ARN devra dans ce cas diminuer ; enfin ce peut être une accélération à la fois de la synthèse et de la dégradation réalisant à l'état pur une stimulation du renouvellement de l'ARN, sans modification du taux de ce composé. Afin de déterminer dans les variations de l'A.S. de l'ARN la part qui revient aux précurseurs, il faudrait mesurer l'activité du nucléotide directement utilisé par les systèmes enzymatiques pour la synthèse de l'ARN. On connaît plusieurs types de précurseurs:dans le cas de l'ARN-polymérase de WEISS (1960) , les nucléosides triphosphatesou l'acide polyadénylique (BISWAS et ABRAMS, 1962); la polynucléotide phosphorylase de GRUNBERG-MANAGO et OCHOA (1955) (décrite dans le noyau des cellules thymiques par HILMOE et HEPPEL, 1957) utilise au contraire les nucléosides diphosphates. Devant les difficultés techniques que représenterait une étude des précurseurs directs de l'ARN et ne sachant pas si tous les ARN de la cellule ont le même précurseur, nous avons rapporté l'A.S. de l'ARN à celle des ions PO_4 minéraux du même tissu qui à travers tous les mécanismes de régulation représentent le précurseur des ions phosphates entrant dans la constitution des AN.

Les résultats des expériences 1 et 2 (tableaux 2 et 3)

indiquant à la fois une élévation de la masse d'ARN et de son activité spécifique, montrent l'existence d'une réelle stimulation de la synthèse de cet AN sous l'influence de la thyroxine. Cependant la quantité absolue de $^{32}PO_4$ incorporée par unité de poids dans l'ARN (activité absolue) augmente plus que la teneur en ARN : + 55 p.100 et +28 p.100 respectivement dans l'expérience 1 et + 25 p.100 et + 12 p.100 dans l'expérience 2. Quelle est la signification de ces différences ? S'agit-il d'une élévation globale du renouvellement qui traduit la néosynthèse ou d'une différence entre les activités spécifiques des ARN néoformés et préexistants ? Pour répondre à cette question, nous avons recherché si à un délai plus court l'administration de thyroxine provoque des modifications du métabolisme de l'ARN en l'absence de signes nets de néosynthèse. Si le surplus de radioactivité est apporté par l'ARN nouvellement formé exclusivement, cette recherche restera négative.

En réduisant le traitement hormonal à 12 heures et en injectant 2 mg de thyroxine pendant ce bref délai, nous avons pu observer (tableau 5) une stimulation nette de la quantité de ^{32}P incorporée dans l'ARN. Dans ces conditions expérimentales ni l'AN, ni les protéines, ni a fortiori l'ADN ne présentent de variations significatives (tableau 4).

L'action hypertrophiante de la thyroxine sur le rein, action rénotrope de HERLANT (1949) qu'il a étudié du point de vue histologique, débute donc par une stimulation du renouvellement de l'ARN qui aboutit à une réelle néosynthèse

des constituants essentiels de la cellule, AN et protéines. Il s'agit donc bien d'un nouvel exemple du rôle de l'ARN dans un phénomène de croissance. La signification de cet effet de l'hormone thyroïdienne sera envisagée dans la discussion générale.

Quoiqu'il en soit nos expériences étendent et confirment celles réalisées par MANDEL (1955) sur l'hypertrophie rénale compensatrice. Cet auteur a montré que l'hypertrophie du rein restant en place après une néphrectomie unilatérale était stimulée de 100 p.100 par l'administration de thyroxine. Il y a réelle sommation des effets de la thyroxine et de ceux du stimulus hypertrophiant dû à la néphrectomie controlatérale.

Il faut signaler finalement que l'A.S. des ions minéraux PO_4 du tissu rénal est légèrement diminuée par la thyroxine (tableau 3). Ce corps a en effet une action stimulante sur la phosphaturie ce qui provoque une élimination plus rapide de l'isotope que chez les témoins. Ce fait illustre bien la nécessité, pour obtenir une image nette du métabolisme d'un composé phosphoré de rapporter les valeurs expérimentales à l'A.S. des ions PO_4 du tissu étudié.

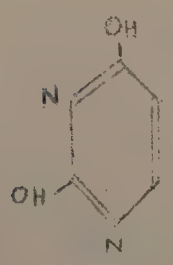
C H A P I T R E II

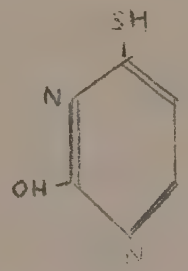
La constatation de l'effet anabolisant de la thyroxine sur l'ARN ne permet pas à lui seul d'affirmer le rôle physiologique des hormones thyroïdiennes dans la régulation de la croissance cellulaire. Si la suppression chez le rat de la fonction thyroïdienne provoquait des modifications inverses de celles observées avec la thyroxine, nous aurions la confirmation nécessaire.

Pour supprimer la fonction de la glande thyroïde, deux méthodes ont été classiquement employées. La première suppose l'ablation chirurgicale complète de la glande, la seconde repose sur l'emploi des antithyroïdiens de synthèse. Les deux techniques ont été abondamment utilisées ; les premières études sur les perturbations de la croissance par la thyroïdectomie remontent au début du siècle (voir HAMMET, 1923), celles utilisant les antithyroïdiens à 1942 (RICHTER et Coll., 1942 - ASTWOOD et Coll., 1943 - McKENZIE et Coll., 1943). Si les antithyroïdiens de synthèse sont d'un maniement plus simple, notamment chez l'embryon, la thyroïdectomie reste néanmoins la technique de choix à condition d'être assuré de la destruction totale de la glande principale ainsi que des ilots ectopiques qui peuvent exister et qui par suite de l'ablation de la thyroïde subissent une importante stimulation due à l'hormone thyreotrope antehypophysaire. La thyroïdectomie nécessite dans ce cas une contre épreuve par

injection de thyroxine pour éliminer les troubles dus uniquement au choc opératoire.

Les résultats obtenus avec ces deux méthodes sont discutables. Selon HERLANT (1949), la thyroïdectomie inhibe l'hypertrophie rénale compensatrice. Ces résultats ne concordent ni avec ceux de MacQUEENS, WILLIAMS et THOMSON (1940) ni avec ceux de ZECKWER (1946) ou de VAIORI (1949). L'ablation chirurgicale de la glande n'a aucune action sur les constituants protéiques et nucléiques du rein au repos, selon MANDEL (1955), pas plus d'ailleurs que l'administration de propylthioracile (MANDEL et Coll., 1960). Cet antithyroïdien de synthèse au contraire inhibe fortement l'hypertrophie rénale compensatrice comme le montrent HERLANT (1949) et MANDEL (1955). Ainsi, si les résultats de la thyroïdectomie sont inconstants, ce qui s'explique par les difficultés techniques évoquées, l'action du propylthiouracile sur la croissance compensatrice du rein semble incontestée. Cependant ce corps, analogue structural de l'uracile, peut agir directement sur le métabolisme des AN. Le groupement thiouracile en effet est un inhibiteur du développement du virus de la mosaïque du tabac (COMMONER et MERCER, 1952). Le thiouracile, qui diffère de l'uracile par le remplacement d'un atome d'oxygène par un atome de soufre, peut être incorporé





dans l'ARN à la place de l'uracile (JEENER et ROSSEELS, 1953). Le polynucléotide formé est inapte à remplir son rôle biologique dans les synthèses protéiques et la croissance est stoppée. Les travaux utilisant les antithyroïdiens de synthèse qui agissent directement sur les AN ne permettent donc pas de conclure quant au rôle après thyroïdectomie n'ayant porté que sur l'évaluation quantitative des AN et des protéines et non sur leur renouvellement, aucune conclusion définitive n'est possible quant à l'effet de l'hormone thyroïdienne dans le métabolisme de ces macromolécules.

Pour ces raisons nous avons d'une part réalisé une thyroïdectomie offrant les garanties chirurgicales nécessaires et avons étudié l'incorporation du ^{32}P dans l'ARN du rein adulte au repos. Nous avons également repris l'examen de l'hypertrophie rénale compensatrice chez les animaux hypothyroïdiens.

RESULTATS EXPERIMENTAUX.

La thyroïdectomie suivie de deux injections d'iode radioactive telle que nous l'avons pratiquée, provoque après 4 semaines une chute du poids des rats de 15 p.100 et après 5 semaines de 19 p.100.

Le tableau 6 présente l'évolution du poids frais du rein et de sa teneur en protéines et en ARN après suppression de la fonction thyroïdienne. Quatre semaines après l'intervention, le poids de l'organe a baissé en moyenne de 18 p.100, les protéines de 8 p.100 et l'ARN de 6 p.100 ; après 5

TABLEAU 6

EVOLUTION DES PROTEINES ET DE L'ARN DU REIN DANS L'HYPOTHYROÏDIE

	N° Exp.	rat témoin	rat hypothyroïdien			
			4 semaines	p.100	5 semaines	p.100
Poids un rein g	1	0,870	0,733	-16	0,529	-39
	2	0,876	0,769	-12	0,638	-27
	3	1,194	0,919	-23	0,760	-36
Protéines un rein mg	1	100,0	101,5	+ 1	91,5	- 8
	2	109,5	104,0	- 5	94,0	-15
	3	134,6	109,0	-19	99,0	-27
ARN un rein µM Nt	1	7,9	7,9	0	7,2	- 8
	2	8,7	8,4	-4	7,7	-12
	3	10,6	9,1	-14	8,2	-22

Nt : nucléotides

semaines le poids du rein accuse une diminution de 34 p.100, les protéines de 17 p.100 et l'ARN de 14 p.100. L'ADN n'est pas modifié aux délais que nous avons étudiés.

Il existe donc une importante modification du poids des animaux et surtout du poids du rein, qui n'est pas en rapport avec les faibles diminutions des constituants essentiels de la cellule. En réalité, le poids qui est déterminé avant tout par la masse hydrique est très labile chez les animaux thyréoprives : on constate en effet chez ces rats une hausse importante du poids du rein dès les premières 26 heures qui suivent la néphrectomie controlatérale (+ 15 p.100) et qui se retrouve après 12 jours d'hypertrophie (+ 18 p.100) mais qui ne s'accompagne pas de variations des protéines et de l'ARN comme chez les animaux dont la thyroïde est intacte. Cette labilité hydrique est un signe que l'on retrouve dans le myxoedème.

Il apparaît que la réduction des composés nucléoprotéiques de l'organe survient seulement à des délais éloignés parallèlement à un déclin de l'état général de l'animal qui reflète sans doute des modifications semblables au niveau des autres organes. L'accélération des processus atrophiques entre la 4ème et la 5ème semaine ainsi que les morts spontanées survenues au courant de la 6ème semaine confirme cette manière de voir.

Contrastant avec les faibles variations quantitatives l'incorporation de $^{32}PO_4$ dans l'ARN est fortement inhibée dans les délais étudiés chez l'animal privé de thyroïde.

TABLEAU 7

EFFET DE L'HYPOTHYROÏDIE SUR LE METABOLISME DE L'ARN DU REIN NORMAL ET APRES 24 HEURES D'HYPERTROPHIE

	N° Exp.	rat témoin		rat hypothyroïdien	
		rein normal	rein hypertrophié	rein normal	rein hypertrophié
Poids un rein g	1	0,870	0,988	0,529	0,656
	2	0,876	0,885	0,638	0,711
	3	1,194	1,187	0,760	0,828
Protéines un rein mg	1	100,0	125,8	91,5	87,5
	2	109,4	120,7	94,0	95,8
	3	134,6	154,0	99,0	96,8
ARN un rein µM Nt	1	7,9	11,3	7,2	7,3
	2	8,8	10,0	7,6	7,6
	3	10,5	13,0	8,2	8,4
A.S.R. ARN x 100	1	44,0	55,0	26,8	46,3
	2	41,0	49,0	29,0	44,5
	3	47,5	58,0	28,8	39,0
A.S.PO_4 minéral c.p.m./µ At.P	1	17.600	14.800	46.500	27.200
	2	17.200	16.000	43.300	29.000
	3	15.400	16.000	49.300	36.500

Nt : Nucléotides
A.S. : activité spécifique
A.S.R. : activité spécifique relative
c.p.m. : coups par minute

TABLEAU 8

EFFET DE L'HYPOTHYROÏDIE SUR LE METABOLISME DE L'ARN DU REIN NORMAL ET APRES 24 HEURES D'HYPERTROPHIE

Moyennes des différences en p. 100

	rat témoin		rat hypothyroïdien	
	rein normal	rein hypertrophié	rein normal	rein hypertrophié
Poids un rein	0	+ 7	-34	-24
Protéines un rein	0	+17	-16	-18
ARN un rein	0	+24	-14	-13
A.S.R. ARN	0	+23	-35	- 5

TABLEAU 9

EFFET DE L'HYPOTHYROIDIE SUR LE METABOLISME DE L'ARN DU REIN NORMAL ET APRES 24 HEURES D'HYPERTROPHIE

Moyennes des différences en p. 100

	rat hypothyroïdien	
	rein normal	rein hypertrophié
Poids un rein	0	+15
Protéines un rein	0	- 2
ARN un rein	0	+ 1
A.S.R. A.R.N.	0	+50

(tableaux 7 et 8) Les activités spécifiques relatives remarquablement homogènes, sont abaissées de 35 p.100 chez le rat thyroïdectomisé. Il est intéressant de remarquer que l'A.S. des ions PO_4 minéraux est beaucoup plus élevée chez cet animal. Nous y reviendrons dans la discussion de ces résultats.

Lorsqu'on provoque une HRC, on constate chez l'animal normal dès le premier jour (tableaux 7 et 8) une augmentation importante (+ 23 p.100) de l'incorporation du $^{32}PO_4$ dans l'ARN. Cette stimulation du métabolisme ribonucléique s'accompagne déjà d'une hausse de la quantité d'ARN (+ 24 p.100), de la quantité de protéines (+ 17 p.100) et du poids du rein (+ 7 p.100). L'examen de ce phénomène chez l'hypothyroïdien peut se faire de deux manières. D'abord par comparaison avec le rein normal de l'animal témoin, ce qui permet d'étudier la sommation des effets de la thyroïdectomie et de l'hypertrophie. On constate alors (tableau 8) que le renouvellement de l'ARN dans le rein hypertrophié de l'hypothyroïdien ne dépasse pas la valeur normale. Mais on peut aussi comparer chez l'animal thyréoprive, le rein hypertrophié au rein prélevé pendant la néphrectomie, ce qui permet l'étude isolée du facteur "hypertrophie". Les résultats indiquent alors (tableau 9) qu'il existe malgré la thyroïdectomie une stimulation très importante de l'incorporation du $^{32}PO_4$ due à l'hypertrophie. Néanmoins cette stimulation ne s'accompagne pas d'une hausse de la teneur du rein en protéines et en ARN comme c'est le cas chez le rat normal.

Pour mieux apprécier l'effet de l'ablation de la thyroïde sur l'hypertrophie rénale compensatrice nous avons étudié ces phénomènes 12 jours après la néphrectomie (tableau 10). Chez les animaux normaux on assiste en moyenne à une augmentation pondérale du rein de 11 p.100 et une synthèse de protéines, d'ARN et d'ADN correspondant respectivement à 32 P.100, 37 p.100 et 19 p.100. Dans le cas des animaux hypothyroïdiens, seul le poids de l'organe augmente notablement (18 p.100 en moyenne) les autres constituants ne varient pas. Ce nouvel exemple de dissociation entre le poids et les principaux composants plastiques est remarquable.

Il se confirme donc que l'ablation totale du tissu thyroïdien provoque une inhibition des synthèses d'ARN et rend le rein incapable de réaliser une hypertrophie compensatrice.

DISCUSSION.

1) La réalisation de l'hypothyroïdie et les méthodes employées.

Les modifications observées dans le tissu rénal adulte après suppression de la fonction thyroïdienne, bien que faibles lorsqu'il s'agit des variations des quantités absolues d'ARN ou de protéines prennent toute leur signification si l'on considère les troubles du renouvellement et de la néosynthèse des ARN. Ceci s'illustre particulièrement par la réduction de l'incorporation de phosphore radioactif dans l'ARN et l'inhibition du phénomène d'hypertrophie

TABLEAU 10

EFFET DE L'HYPOTHYROÏDIE SUR UNE HYPERTROPHIE RENALE COMPENSATRICE DE 12 JOURS

	N° Exp.	rat témoin			rat hypothyroïdien		
		rein normal	rein hypertrophié	p.100	rein normal	rein hypertrophié	p.100
Poids un rein g	1	0,870	0,995	+13	0,733	0,826	+12
	2	0,876	0,999	+14	0,769	0,892	+16
	3	1,194	1,240	+ 7	0,919	1,135	+23
Protéines un rein mg	1	100	135	+35	102	101	- 1
	2	109	144	+31	104	114	+ 9
	3	135	176	+31	109	105	- 3
ARN un rein µM Nt	1	7,9	10,9	+37	7,9	7,4	- 7
	2	8,7	12,1	+39	8,4	8,1	- 4
	3	10,6	14,0	+35	9,1	9,4	+ 4
ADN un rein µM Nt	1	5,4	6,5	+20	6,6	6,4	- 3

Nt : nucléotides

compensatrice. Si certains auteurs mentionnés plus haut n'ont pas réussi à mettre en évidence de telles perturbations, c'est principalement parce que la méthode chirurgicale pure, ne peut à elle seule prétendre supprimer toute production d'hormones thyroïdiennes. Par contre, la méthode radio-chirurgicale que nous avons appliquée permet de réaliser cette athyroïdie. La destruction par ^{131}I du tissu thyroïdien est attestée par de nombreuses recherches au cours des dernières années (POTTER et Coll., 1956 - BRUCE et Coll., 1957 - BELOVA, 1959). Les radiations gamma, très pénétrantes, émises par cet isotope produisent une irradiation in situ capable de détruire les cellules glandulaires dans lesquelles il a été retenu. L'effet du radio-isotope est déjà sensible chez l'animal intact où on constate des perturbations des fonctions gouvernées par la thyroïde : métabolisme basal, croissance ... Les doses utilisées le plus fréquemment oscillent de 100 à 250 µc pour un rat. Nous avons préféré faire précéder l'injection de l'isotope par une thyroïdectomie classique aussi complète que possible. Dans ces conditions, le tissu thyroïdien restant, disséminé souvent en plusieurs ilots dans l'organisme, entre dans un état d'hypertrophie et d'hyperplasie durant lequel la fixation d'iode est importante et la sensibilité au rayonnement particulièrement élevée. Les destruction des restes thyroïdiens est par ce fait particulièrement efficace. C'est pourquoi d'ailleurs nous avons attendu 10 jours après l'opération que les

fragments ectopiques, stimulés par l'hyperproduction des thyreostimulines hypophysaires secondaire à la thyroïdectomie, atteignent leur maximum d'activité fixatrice d'iode avant d'injecter l'isotope. Une deuxième injection 10 jours après la première vient compléter l'effet du radio-iode.

L'état général des animaux permet d'ailleurs de juger de l'action de ce traitement. Des modifications importantes du poids et de l'aspect des animaux s'observent seulement après la deuxième injection de ^{131}I, soit vers la 4ème semaine suivant la thyroïdectomie. Il est impossible d'attribuer les phénomènes observés à l'action directe des radiations sur les AN. L'iode injecté représente peu du point de vue de son activité totale, 100 µc, et il est très rapidement concentré au niveau du tissu thyroïdien, où il ne risque plus de provoquer une irradiation directe de l'organisme. Ce qui n'est pas fixé est éliminé par l'excrétion urinaire. Ainsi la méthode radio-chirurgicale que nous préconisons apparaît comme satisfaisante.

A côté des difficultés techniques, certaines causes peuvent rendre difficile l'interprétation des résultats de l'athyroïdie, surtout lors de l'utilisation du $^{32}PO_4$. En effet, la thyroïde gouverne en partie l'élimination rénale des ions phosphates. BEISEL et Coll. (1958) ont montré que l'administration de thyroxine provoquait une véritable phosphaturie ; l'ablation du corps thyroïde ralentissant au contraire cette élimination phosphorée, la quantité de $^{32}PO_4$

retenue par le rat est supérieure chez l'hypothyroïdien. Ceci aboutit à une A.S. des ions PO_4 trois fois supérieure à celle des témoins. Nous avons déjà mentionné au chapitre I une baisse de l'A.S. des ions PO_4 chez les animaux recevant de la thyroxine. Comme les ions phosphates minéraux sont les précurseurs du phosphore nucléique, on conçoit que, toute chose étant égale par ailleurs, dans le tissu où l'A.S. du précurseur est la plus grande, celle de l'ARN sera également plus élevée. Nous avons par conséquent déterminé dans chaque expérience l'A.S. PO_4 et nous avons exprimé les activités de l'ARN en terme d'activité spécifique relative (ASR). Ainsi la comparaison entre les divers tissus peut-elle être faite correctement.

2) Les effets de l'hypothyroïdie.

La suppression de la fonction thyroïdienne, si l'on tient compte des observations faites ci-dessus, fait apparaître des modifications de l'ARN inverses de celles provoquées par la thyroxine. Tout se passe comme si à l'état physiologique, le métabolisme de l'ARN et par conséquent des protéines était maintenu à un certain niveau par la sécrétion thyroïdienne. L'importance de cette constatation apparaît encore plus nettement si on étudie l'effet de la thyroïdectomie radio-chirurgicale sur un phénomène d'hypertrophie et de régénérescence, comme celui qui se produit dans le rein restant après néphrectomie unilatérale. On peut ainsi observer dans un organe adulte des phénomènes similaires à

certains égards à ceux de la croissance. Dans ce laboratoire, MANDEL (1955) a décrit l'HRC chez le rat blanc ; nos expériences s'appuient sur ces travaux. Dans les premières heures qui suivent l'opération, on constate dans le rein restant une élévation du métabolisme de l'ARN (MANDEL et Coll., 1957) qui est rapidement suivie par une accumulation de cet AN. C'est un phénomène extrêmement rapide puisque dès le premier jour la néosynthèse de l'ARN peut atteindre 37 p.100 de sa valeur terminale, (ceci représente une augmentation de l'ARN de 20 p.100 le premier jour pour un accroissement de 53 p.100 après un mois environ). De même une synthèse protéique intensive aboutit dès les premiers jours à une élévation importante de la quantité absolue des protéines du rein. Il est capital de noter que l'ARN augmente avant les protéines. Après deux semaines environ d'évolution de l'HRC, les synthèses de protéines et d'ARN ont atteint les 2/3 de leur valeur finale. Au contraire, l'ADN qui témoigne de la multiplication cellulaire manifeste une augmentation seulement après la 2ème semaine suivant la néphrectomie alors qu'au 2ème mois les valeurs d'ADN sont de 50 p.100 supérieures aux valeurs du témoin. Ces phénomènes qui s'accompagnent d'une adaptation physiologique du rein sont donc très voisins d'une croissance normale puisqu'il y a hypertrophie, hyperplasie et différenciation cellulaire. De plus, ils confirment le rôle primordial du métabolisme de l'ARN dans toute synthèse protéique.

Grâce à l'étude de l'HRC, nous avons constaté que la thyroxine ne limite pas son action au renouvellement de l'ARN mais qu'elle intervient dans la régulation de la croissance cellulaire chez les animaux supérieurs comme chez les vertébrés inférieurs. Ceci est particulièrement illustré dans la figure 2. Celle-ci offre une représentation graphique des données des tableaux 7 et 8 et montre que dans le cas d'une stimulation de la synthèse d'ARN comme le réalise une hypertrophie compensatrice de 24 heures, l'absence d'hormones thyroïdiennes ne permet pas à l'activité spécifique relative du phosphore ribonucléique de s'élever. Pourtant le stimulus de l'HRC paraît agir sur le rein hypothyroïdien. Il y a sommation algébrique des effets de la croissance et de la thyroïdectomie : fait remarquable, l'activité spécifique relative de l'ARN se stabilise au voisinage de la valeur normale de repos et par suite il n'y a aucune synthèse nette d'ARN visible. C'est là un indice supplémentaire de la nécessité d'une accélération préalable du renouvellement avant qu'une néosynthèse apparaisse. Douze jours après la néphrectomie, comme le montre la figure 3, l'inhibition de l'HRC est évidente. L'augmentation du poids de l'organe ne correspond pas à une hypertrophie mais à un oedème.

Ces données permettent de trancher la discussion entre HERLANT (1949) et ZWECKER (1946). La thyroïdectomie complète rend le rein incapable d'une nouvelle croissance bien que le stimulus hypertrophiant aboutisse à une remontée du renouvellement de l'ARN jusqu'à une valeur normale.

Le propylthiouracile est également capable de réaliser les mêmes effets que la thyroïdectomie (MANDEL et Coll., 1960 - KLEINSORG et Coll., 1949 - HERLANT, 1949). Mais nous avons déjà indiqué les raisons qui interdisent de tirer de l'utilisation de ces corps, toute conclusion quant aux effets de la thyroïde sur les A.N.

Il serait sans doute utile de compléter notre analyse des effets de la thyroïdectomie par des essais dans lesquels l'animal privé de sa sécrétion reçoit des doses physiologiques de thyroxine. Nous envisageons de faire ces expériences ultérieurement mais dès à présent la constatation que l'apport de thyroxine stimule le métabolisme de l'ARN et que la thyroïdectomie l'inhibe nous paraît suffisante pour affirmer le rôle de la glande thyroïde sur l'ARN.

D I S C U S S I O N G E N E R A L E

Les expériences présentées et discutées dans les deux chapitres précédents, résumées dans les figures 1, 2 et 3, s'éclairent mutuellement et nous permettent maintenant d'aborder certains aspects de la régulation des synthèses d'ARN in vivo dans les cellules de mammifères. Ces phénomènes sont d'une importance capitale pour la compréhension de la croissance autant normale que pathologique. En effet, bien que depuis les travaux originaux de BRACHET (1941) et de CASPERSSON (1941) le rôle biologique des AN soit connu, les progrès de la biochimie moderne ont jeté tout dernièrement la lumière sur les mécanismes de l'intervention des AN dans la synthèse protéique. Les étapes principales de ces progrès méritent d'être rappelées, spécialement en ce qui concerne l'ARN.

La théorie du rôle de l'ARN dans les synthèses protéiques est issue des travaux cytochimiques mentionnés plus haut qui indiquaient que les cellules qui produisent des quantités importantes de protéines sont riches en ARN : par exemple les cellules hépatiques et pancréatiques. Les cellules des organes qui ont une activité physiologique intense sans synthèses actives de protéines, le rein, le coeur, le muscle, sont pauvres an ARN. Des travaux ultérieurs ont montré que le

taux d'ARN d'une même cellule varie avec les conditions de vie de l'animal. L'absence d'acides aminés dans le régime alimentaire qui réduit considérablement les synthèses protéiques fait décroître la teneur en ARN de la cellule hépatique et de la cellule rénale (DAVIDSON et Coll., 1945 - MANDEL et Coll. 1950). La croissance au contraire s'accompagne d'une concentration importante d'ARN (VENDRELY, 1946 - MANDEL et Coll., 1954) ainsi que l'adaptation enzymatique chez les bactéries (PRICE, 1952 - PARDEE, 1954). Cependant chez les bactéries certains antibiotiques comme le chloramphénicol par exemple peuvent dissocier les synthèses protéiques des synthèses d'ARN.

Ce n'est qu'au cours des dernières années que l'on a pu acquérir la preuve du rôle direct de l'ARN dans la synthèse protéique, grâce à l'étude in vitro de l'incorporation d'acides aminés marqués au ^{14}C dans les protéines. GALE et FOLKES (1954) ont les premiers montré qu'en supprimant dans un milieu bactérie acellulaire l'ARN par la ribonucléase, la synthèse protéique était inhibée. Elle peut être restaurée par l'addition d'ARN à condition qu'il provienne de la même espèce bactérienne. C'est la démonstration du rôle spécifique de l'AN. L'étape suivante constitue les découvertes de ZAMECNIK et Coll. (1954) et de HOAGLAND et Coll. (1957) qui ont mis en évidence trois réactions fondamentales pour la synthèse des protéines auxquelles participent divers types d'ARN. Rappelons que chaque acide aminé possède un ARN

soluble spécifique qui assure son transport sur le complexe ribonucléique des ribosomes. Mais tous les protides et principalement les enzymes ont une structure spécifique qui trouve son origine dans l'information génétique contenue dans l'ADN. JACOB et MONOD (1961) postulent l'existence d'un ARN labile qui apporte l'information génétique fournie par l'ADN aux ribosomes. Un ARN correspondant à cette hypothèse a été mis en évidence par GROS et Coll. (1961) et SPIEGELMANN (1961) chez les bactéries et par CHENG (1961) puis par HIATT (1962) dans les cellules de mammifères. La dernière étape a été enfin la démonstration de la relation structurale entre l'ARN fonctionnant comme messager et la protéine fabriquée et qui est appelée le code biologique (NIRENBERG et Coll., 1962).

L'hypothèse actuelle est donc que l'ARN messager, portant dans la séquence des nucléotides qui le forment le message d'un cistron d'ADN, se fixe sur le ribosome et ordonne la succession des acides aminés dans une protéine en faisant correspondre à chaque unité du code (codon) l'ARN soluble - acide aminé spécifique. Puis la polymérisation des acides aminés se fait et la protéine est libérée.

On conçoit ainsi que toute la synthèse des protéines soit gouvernée par la présence et le métabolisme des divers ARN de la cellule. Le mode de synthèse des ARN n'est pas clairement établi. On s'accorde cependant à reconnaître au noyau un rôle fondamental. Certains travaux montrent qu'une grande partie des ARN serait formée dans le noyau et migrerait ..

ensuite vers le cytoplasme (PRESCOTT, 1960). En accord avec cette hypothèse, se trouve la fait que, parmi les enzymes animaux qui fabriquent de l'ARN, le principal semble être l'ARN-polymérase de WEISS (1960) décrite dans le noyau des cellules hépatiques. Cet enzyme nécessite la présence d'ADN et des 4 nucléosides triphosphates. Il existe dans les noyaux des cellules rénales (MANDEL et Coll., 1962). La séquence des nucléotides dans l'ARN fabriqué dépend de l'ADN présent dans le milieu d'incubation et qui sert de modèle. Le rôle physiologique de l'ARN-polymérase a été démontré (BUSCH et Coll., 1962). Les trois types d'ARN décrits, ribosomique, soluble et messager peuvent être formés par l'ARN-polymérase qui assure la copie des cistrons spécifiques pour l'ARN messager et ceux des ARN ribosomique et soluble décrits par YANKOFSKY et SPIEGELMANN (1962). Cependant il peut y avoir encore d'autres enzymes actifs : ainsi une ARN-polymérase utilisant l'ARN comme amorce a été décrite dans les noyaux et dans le cytoplasme par BURDON et SMELLIE (1961).

Armé de ces connaissances, nous pouvons maintenant comprendre comment une régulation de la biosynthèse des AN peut aboutir à un contrôle étroit de la croissance cellulaire. Les effets de la thyroxine ou de la thyroïdectomie sur la croissance que nous avons rappelés dans l'introduction peuvent s'expliquer par ceux de la fonction thyroïdienne sur les AN décrits dans cette thèse.

Des recherches entreprises par SOKOLOFF et ses collaborateurs (1961) pour essayer dans un système in vitro de

synthèse protéique de retrouver l'effet global de la thyroxine, n'ont pas encore abouti à une compréhension correcte de ces phénomènes. Ces auteurs ont montré que l'incorporation d'acides aminés, marqués par le ^{14}C, dans les protéines d'un homogénat de foie de rat était stimulée chez l'animal rendu hyperthyroïdien par l'administration pendant 10 jours de 0,1 mg de thyroxine par animal et par jour. Une même stimulation peut être observée si on ajoute in vitro de la L-thyroxine $6,5.10^{-5}$ M, dans le milieu d'incubation. L'apparition de cet effet, outre le système classique de synthèse protéique, nécessite la présence des mitochondries et d'un substrat oxydable. La phase de latence dans les essais in vitro qui ne peut être supprimée que par préincubation de l'homogénat en présence de thyroxine et du substrat indique qu'une réaction, qui implique à la fois le substrat et l'hormone, précède la stimulation de l'incorporation des acides aminés. Dans un travail ultérieur, le même auteur (SOKOLOFF et Coll., 1961) a montré que l'incorporation de l'ARN soluble - acide aminé dans les protéines microsomales était spécialement stimulée, dans les conditions décrites, par la thyroxine. Ces expériences bien qu'elles permettent d'envisager un mode d'action de la thyroxine dans la croissance, ne fournissent aucune interprétation quant au mécanisme. Ces expériences in vitro montrent cependant que l'effet de la thyroïde sur la croissance est direct et ne fait pas appel aux relations endocriniennes thyroïde-stimulines o...

hypophysaires-corticosurrénalienne ou à une relation thyroïde-hormone de croissance (LEBLOND et Coll., 1955 - SELYE et Coll., 1945) qui d'ailleurs est controversée (WILLIER et Coll., 1955).

Il nous semble donc justifié d'examiner tour à tour les différents effets de la thyroxine, qui ont été résumés récemment par PITT, RIVERS et TATA (1959) afin de dégager le mécanisme le plus satisfaisant pour expliquer l'action de la thyroïde sur le métabolisme de l'ARN. La plupart des travaux ont trait au métabolisme énergétique mais nous verrons qu'ils mènent vers le phénomène capital des relations entre la production d'énergie et la synthèse nucléoprotéique.

La thyroxine n'a pas d'action directe sur les enzymes qui catalysent les synthèses de protéines et d'ARN. En effet, dans les expériences de SOKOLOFF et Coll. (1961) la nécessité de la présence des mitochondries indique qu'il s'agit d'un phénomène indirect. WEILL, CHAMBON et MANDEL (1962) ont vérifié dans ce laboratoire que l'administration de thyroxine au rat dans les conditions que nous avons employées ne provoque pas de modifications de l'activité de l'ARN-polymérase des noyaux de foie. Cette activité a été mesurée par l'incorporation d'ATP-^{14}C par une préparation enzymatique contenant de l'ADN en présence d'UTP, de CTP et de GTP.

Il semble donc plus probable que l'action de l'hormone

thyroïdienne sur la croissance est liée à son action sur les processus énergétiques de la cellule. L'effet découplant de la thyroxine sur les oxydations phosphorylantes a été découvert après la constatation de l'action du 2,4-dinitrophénol (DNP) (LOOMIS et LIPMANN, 1948) qui possède certaines analogies structurales avec l'hormone. La thyroxine in vivo et in vitro diminue le rapport P/O des mitochondries et augmente la consommation d'oxygène (NIEMEYER et Coll., 1951 - LARDY et Coll., 1951 - MARTIUS et HESS, 1951). MARTIUS et HESS (1955) ont montré que 12 heures après le début du traitement hormonal, le rapport P/O est déjà diminué de 25 p.100. Rappelons que dans nos essais le renouvellement de l'ARN est nettement stimulé à ce délai. La glycolyse et le shunt sont stimulés chez l'hyperthyroïdien (SPIRO et BALL, 1958). La théorie adoptée est que la thyroxine en diminuant le nombre de liaisons riches en énergie synthétisées par atome d'oxygène utilisé dans les oxydations mitochondriales oblige l'organisme pour accomplir un même travail ou une même synthèse à employer plus de substrats énergétiques que normalement (LARDY, 1957). Il y a une perte d'énergie sous forme de chaleur qui explique l'élévation du métabolisme basal.

Cette action mitochondriale permet d'entrevoir pourquoi l'effet de SOKOLOFF (1961) nécessite la présence des mitochondries mais elle ne suffit pas expliquer la stimulation observée. L'action découplante sur les phosphorylations oxydatives devrait plutôt produire une inhibition de la

synthèse protéique par manque d'énergie comme c'est le cas avec le 2,4-DNP (SIEKEVITZ, 1952). Certains auteurs ont décrit récemment une action stimulante de faibles concentrations de thyroxine in vitro sur les phosphorylations mitochondriales (BRONK, 1960). Mais une production augmentée d'ATP ou même de GTP dans le milieu d'incubation de SOKOLOFF (1961) n'expliquerait pas les faits car cet auteur a vérifié que l'addition d'ATP et de GTP ne modifiait pas la stimulation de la thyroxine.

Comment la thyroxine agit-elle sur les oxydations phosphorylantes ? Alors que l'action découplante du DNP s'explique en partie par son effet stimulant sur l'ATPase, cette action n'est pas établie avec certitude pour la thyroxine (KLEMPERER, 1957 - COOPER et LEHNINGER, 1957 - DICKENS et SALMONY, 1956).

Une action directe de la thyroxine sur les systèmes enzymatiques de la mitochondrie a été envisagée. Presque tous les enzymes du métabolisme intermédiaire ont été étudiés. De nombreuses fonctions enzymatiques sont altérées par l'hormone (PITTS-RIVERS et TATA, 1959). Cependant aucune des modifications enzymatiques observées n'a pu expliquer les effets physiologiques de l'hormone. Au contraire plusieurs arguments militent contre l'intervention de la thyroxine par des effets enzymatiques directs : c'est en particulier les contradictions concernant les résultats expérimentaux (surtout du point de vue des doses employées) et l'absence de parallèlisme entre le nombre et la fonction des enzymes altérés et les

effets physiologiques de la thyroxine. Dans l'immense majorité des cas un effet pharmacologique ou toxique peut être invoqué pour expliquer ces phénomènes enzymatiques.

Des études récentes (WOLFF, 1962) ont montré néanmoins que la thyroxine in vitro pouvait provoquer des modifications physico-chimiques très importantes de certaines déshydrogénases notamment la glutamate déshydrogénase. EMMELOT et BOS (1958) avaient déjà montré que la thyroxine inhibe cet enzyme en libérant le nicotinamide adénine dinucléotide (NAD) qui lui est lié.

Une autre action directe a pu être envisagée avec un certain intérêt, celle sur la transhydrogénase. Cet enzyme qui catalyse la réaction entre le $NADPH_2$ et le NAD est inhibé in vivo et in vitro par la thyroxine (BALL et COOPER, 1957).

$$NAD^+ + NADPH_2 \rightleftharpoons NADH_2 + NADP$$

Chez l'animal traité par la thyroxine, l'oxydation du $NADPH_2$ est réalisée par l'intermédiaire de la $NADPH_2$-cytochrome c réductase cytoplasmique qui est augmentée chez les hyperthyroïdiens (PHILLIPS et LANGDON, 1956). L'oxydation par cette voie élimine le transport de l'H^+ au $NADH_2$ et par conséquent ne forme pas de liaisons phosphorées riches en énergie. Ceci peut expliquer l'augmentation de la consommation d'oxygène et la chute du rapport P/O. De plus le $NADPH_2$ s'accumule partiellement, ce qui rend possible l'accroissement de la biosynthèse des acides gras observé dans l'hyperthyroïdie (SPIRTES et Coll., 1953).

La découverte de l'effet de la thyroïde sur la transhydrogénase a introduit dans la discussion du mode d'action de la thyroxine le rôle du NAD. On sait que la transhydrogénase comme la plupart des déshydrogénases nécessite du NAD pour manifester son activité. L'inhibition de ces enzymes pourrait donc s'expliquer par l'absence de NAD. En faveur de cette hypothèse parle la constatation de MALEY et LARDY (1955) que l'action découplante de la thyroxine disparaissait si on ajoute du NAD au milieu d'incubation. Les mêmes auteurs ont montré que le taux du NAD mitochondrial des animaux hyperthyroïdiens était plus bas que celui des témoins sans que l'activité de la NAD pyro phosphorylase nucléaire soit modifiée. Pour ces auteurs il s'agirait d'une action directe de l'hormone sur les déshydrogénases à NAD qui aboutirait à la perte du coenzyme.

Une autre éventualité d'action de la thyroxine ressort des travaux de TAPLEY et COOPER (1956) qui suggèrent que l'action de l'hormone est liée à une perturbation de la structure mitochondriale. La thyroxine provoque un gonflement des mitochondries semblable à celui obtenu par l'effet de l'ATPase, les ions Ca^{++} ou le maintien prolongé de ces particules dans un milieu d'incubation. Au contraire le retour au volume normal peut se faire en présence d'ATP, d'inhibiteurs des transports d'électrons et paradoxalement du DNP.

Récemment SEVERIN et Coll. (1961) ont résumé l'action de l'hyperthyroïdie en basant tous ses effets sur des modifications de la structure mitochondriale. La première altération

serait une augmentation de la perméabilité, avec gonflement et désorganisation du complexe enzymatique. Il y aurait un départ de NAD et de cytochrome c vers le liquide cytoplasmique ; les déshydrogénases mitochondriales perdent leur codéshydrogénase et subissent des dissociations moléculaires. Cette manière de voir basée sur des essais de restitution de NAD est attrayante ; elle permet de comprendre à la fois l'action hormonale sur les enzymes, sur le gonflement mitochondrial et sur les oxydations phosphorylantes.

L'attention est donc de toute évidence attirée vers le NAD. Les animaux traités à la thyroxine possèdent moins de NAD mitochondrial que les animaux normaux. Après l'injection de nicotinamide, la synthèse de NAD est plus faible chez les animaux hyperthyroïdiens que chez les animaux témoins (BOSCH et HARPER, 1959). Comme on n'a pas observé de baisse de la NAD pyrophosphorylase, la diminution de la synthèse de NAD ne peut pas s'expliquer par une atteinte de l'enzyme synthétisant et l'on est conduit à chercher la cause dans un manque de précurseur. Il pourrait s'agit soit de l'ATP soit du nicotinamide mononucléotide. Le rôle éventuel de l'ATP a été envisagé mais comme le DNP ne produit pas le même effet, c'est l'hypothèse d'un manque de nicotinamide mononucléotide (NMN) qui doit être retenue. Celui-ci pourrait résulter d'une inhibition de la NMN pyrophosphorylase qui transforme la nicotinamide en NMN par le produit

final de la réaction, le NAD, qui quitte les mitochondries et s'accumule dans le cytoplasme.

Quoiqu'il en soit cette diminution de la biosynthèse de NAD dans les cellules soumises à l'action des hormones thyroïdiennes suffit à rendre compte à la fois des phénomènes énergétiques et des phénomènes de croissance. En effet, nous avons longuement étudié ces dernières années la relation entre les synthèses d'ARN et de NAD dans le noyau cellulaire. Nous avons pu montrer l'existence d'un équilibre entre ces deux réactions : l'enzyme qui dans le noyau fabrique l'ARN à partir des nucléosides triphosphates et la NAD pyrophosphorylase sont en compétition pour l'ATP. Normalement dans le noyau, la synthèse d'un ARN nucléaire est maintenue par le turnover du NAD. Lorsque sous l'effet des désordres mitochondriaux le métabolisme de ce coenzyme est modifié la régulation disparaît ce qui entraîne une augmentation de la synthèse d'ARN pour aboutir finalement au phénomène d'hypertrophie décrit dans la figure 1. Cet équilibre explique comment on peut observer des synthèses d'ARN accrues alors que la quantité d'ATP est réduite : la biosynthèse de DPN étant inhibée, l'ATP disponible pour la formation d'ARN est lui augmenté.

Les résultats présentés par la figure 2 plaident aussi en faveur d'une telle conception. L'équilibre constaté entre l'hypertrophie compensatrice et la thyroïdectomie est du même type que celui observé après stimulation de la synthèse de NAD par la nicotinamide (REVEL et MANDEL, 1962). Ces phénomènes

pourraient relever d'un même mécanisme. L'hypothyroïdie s'accompagnerait d'une augmentation de la synthèse de NAD et provoquerait des phénomènes inverses de ceux de l'hyperthyroïdie.

Il est évidemment tentant d'interpréter les expériences de SOKOLOFF et Coll. (1961) comme une conséquence des modifications de l'ARN, celui étant indispensable aux synthèses protéiques mais ceci ne paraît pas à présent possible surtout devant l'absence de données sur l'effet de la thyroxine dans les états intermédiaires qui aboutissent à l'incorporation des acides aminés dans les microsomes. D'autre part, les expériences réalisées in vitro ne peuvent bénéficier de la même interprétation. Aucune explication satisfaisante n'a pu être encore dégagée. Une réaction directe de l'hormone avec un substrat a été évoquée (LeBRETON et Coll., 1959).

Nous avons signalé que l'hyperthyroïdie aboutissait à une prolifération de cellules qui gardaient leur différenciation ; ceci nécessite la formation d'enzymes spécifiques synthétisant de l'ADN, de l'ARN et des protéines et dans toutes ces synthèses c'est l'ARN qui est nécessaire. La thyroxine agit-elle sur tous ces phénomènes par le même mécanisme? c'est là une question à laquelle nous nous garderons de répondre en l'absence de données valables.

Il ressort de notre discussion que les incertitudes quant au mode d'action de la thyroxine sont encore nombreuses et

s'ajoutent à notre ignorance concernant le développement cellulaire à proprement parler, il convient néanmoins de retenir l'effet de la fonction thyroïdienne comme exemple de régulation de divers niveaux du métabolisme cellulaire.

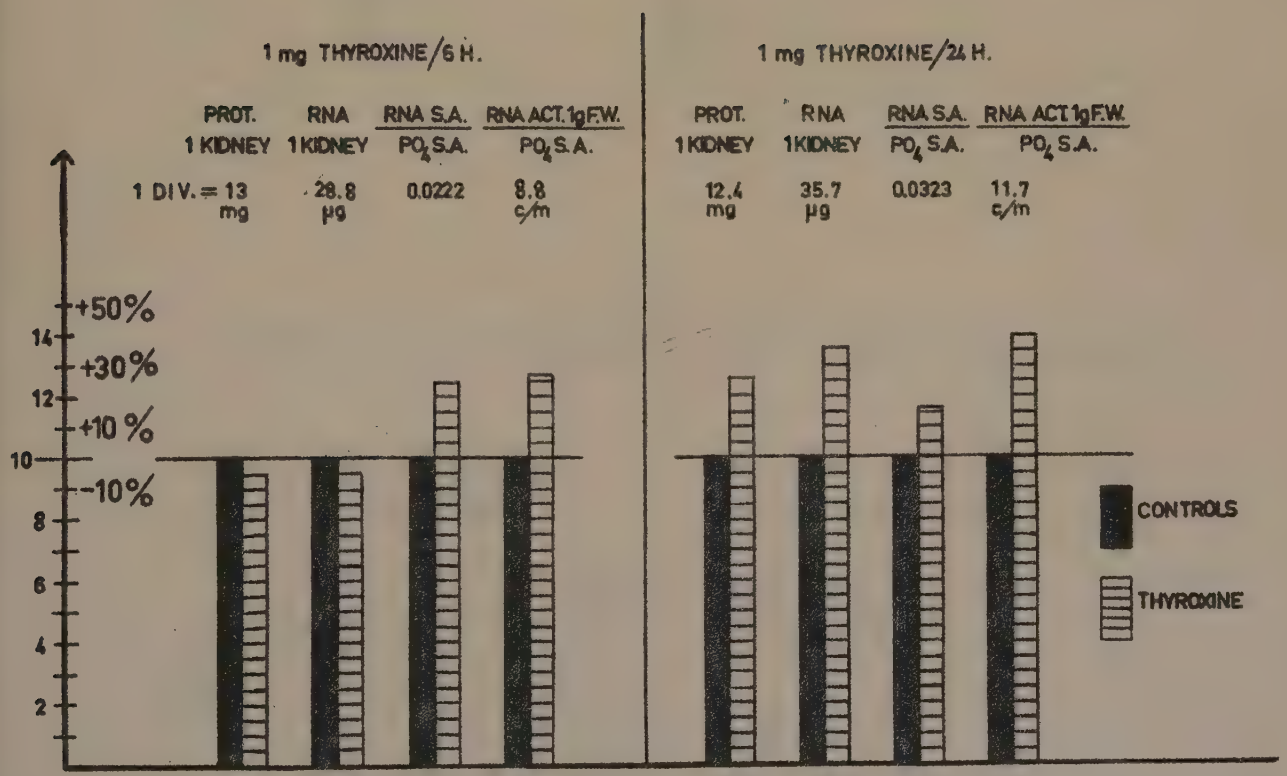
FIG. 1.

EFFET DE LA THYROXINE SUR LE METABOLISME

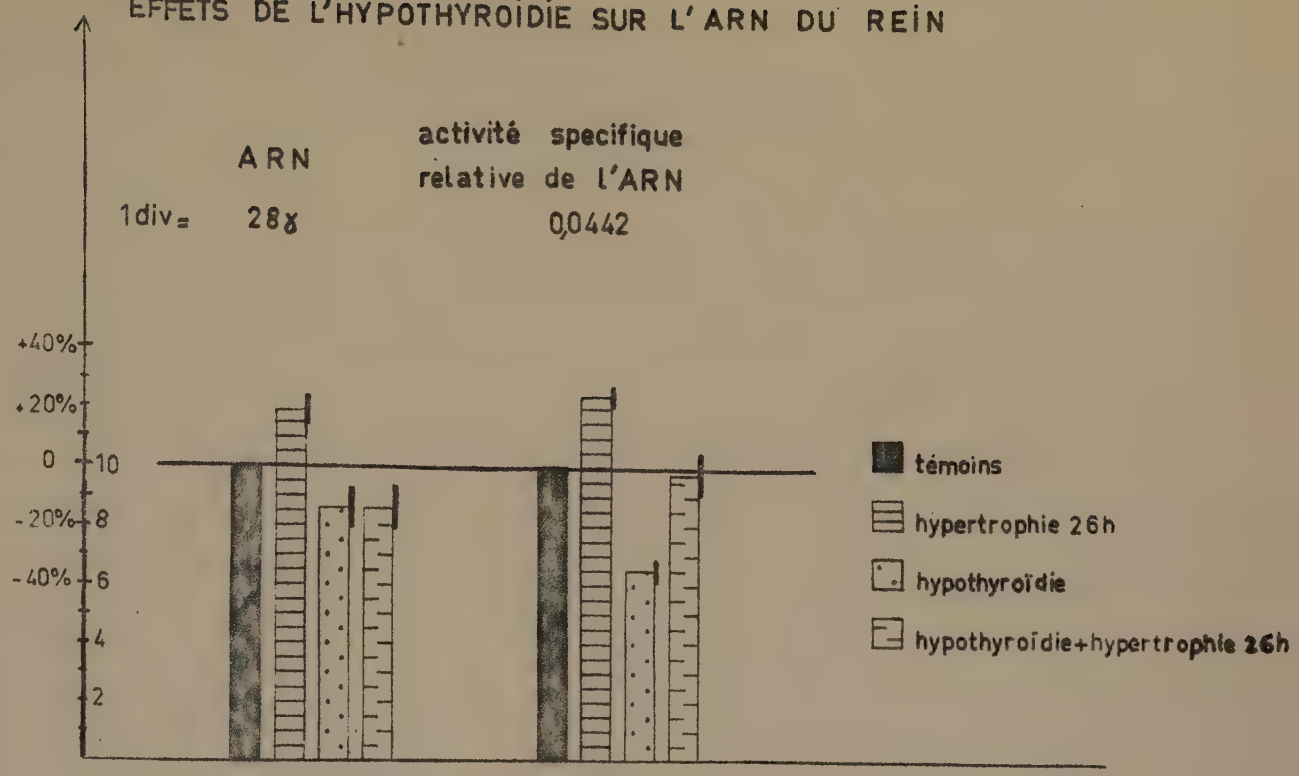
DE L'ARN DU REIN

Après 12 heures

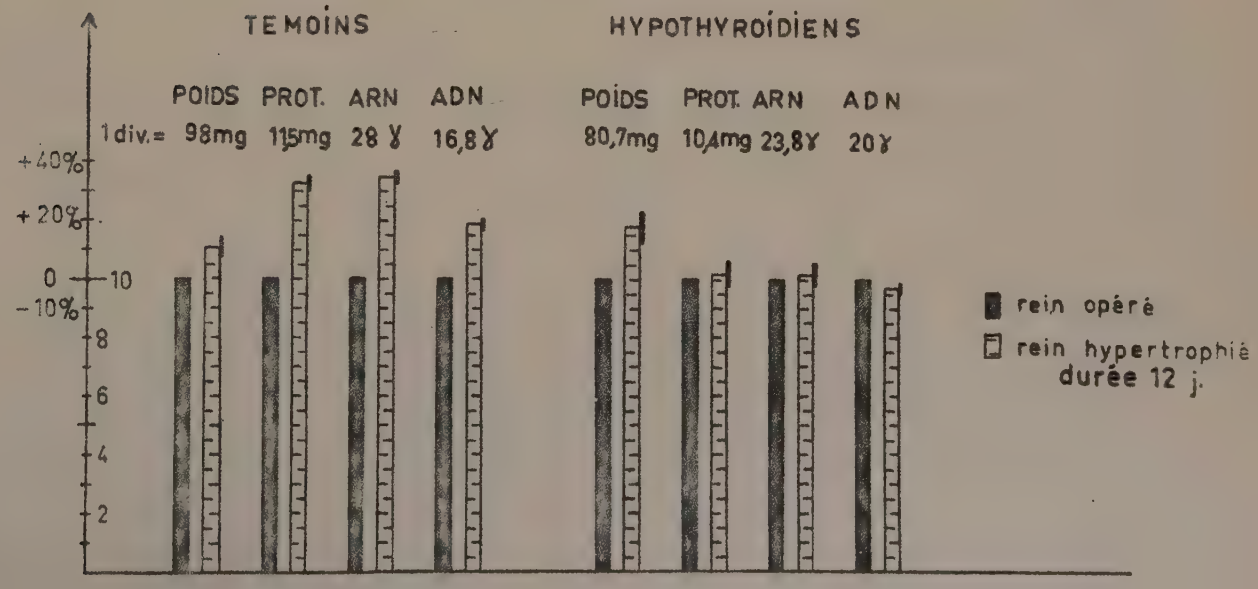
Après 5 jours



EFFETS DE L'HYPOTHYROÏDIE SUR L'ARN DU REIN



EFFETS DE L'HYPOTHYROIDIE SUR L'HYPERTROPHIE RENALE



R E S U M E E T C O N C L U S I O N S

L'action stimulatrice des hormones thyroïdiennes sur le développement des organes des vertébrés est connu depuis de nombreuses années. Les progrès de la biochimie ont démontré le rôle primordial que jouent les acides nucléiques dans la synthèse protéique et par conséquent dans la croissance. L'étude des effets de la thyroxine sur les acides nucléiques des divers organes, entreprise dans notre laboratoire depuis 1950, demandait à être complétée et étendue par une étude métabolique de l'acide ribonucléique (ARN) à la fois dans l'hyperthyroïdie et dans l'hypothyroïdie. Nous avons choisi pour ce travail le rein du rat blanc dans lequel on peut provoquer le phénomène d'hypertrophie compensatrice.

L'injection de 1 mg de thyroxine par jour pendant 5 jours provoque une importante hypertrophie du rein qui se traduit par une augmentation de l'ARN et de l'incorporation du $^{32}PO_4$ dans ce composé. En réduisant le traitement hormonal à 12 heures (1 mg de thyroxine/6 heures) on observe seulement une nette stimulation de l'entrée du $^{32}PO_4$ dans l'ARN sans variation de la quantité d'ARN du rein. Ceci indique que la thyroxine provoque rapidement une intensification du métabolisme ribonucléique qui aboutit à une néosynthèse d'ARN et de protéines et à une hypertrophie rénale marquée.

Au contraire l'ablation de la thyroïde, à condition d'être complétée par un traitement à l'iode radioactif, produit une inhibition importante de l'incorporation du radiophosphore dans l'ARN. La diminution des quantités d'ARN et de protéines n'est que légère. Pour apprécier l'influence de la sécrétion thyroïdienne sur la croissance du rein, nous avons étudié l'hypertrophie rénale compensatrice chez des animaux normaux et chez des animaux thyroïdectomisés. Chez le rat normal, la néphrectomie unilatérale provoque dans le rein restant une augmentation du métabolisme de l'ARN qui aboutit dès les premiers jours à une néosynthèse d'ARN. Les taux d'ARN et de protéines s'élèvent de 35 à 40 p.100 en 12 jours. Chez les rats thyroïdectomisés, la néphrectomie controlatérale provoque aussi un accroissement du renouvellement de l'ARN mais l'activité spécifique de ce composé ne fait que revenir à la valeur normale du rein au repos. Cette valeur n'est pas dépassée et aucune néosynthèse d'ARN ni de protéine ne se produit. Le rein est devenu incapable de réaliser une hypertrophie compensatrice. Le poids de l'organe subit pourtant des variations qu'il faut attribuer à la grande labilité hydrique caractéristique des hypothyroïdies.

Ces faits indiquent par conséquent que les hormones thyroïdiennes contrôlent la synthèse de l'ARN et à travers elle le développement des divers tissus. Nous avons essayé de fournir une interprétation de ce phénomène en tenant compte des effets mitochondriaux de la thyroxine sur le métabolisme énergétique de la cellule et notamment sur le nicotinamide adénine

dinucléotide. Il existe un équilibre dans le tissu entre la synthèse de l'ARN et celle du nicotinamide adénine dinucléotide. La thyroxine déplace cet équilibre vers la synthèse d'acide nucléique alors que la thyroïdectomie produit l'effet inverse. Une étude plus approfondie de ces phénomènes pourrait aboutir à une meilleure compréhension du rôle des hormones dans l'équilibre métabolique cellulaire.

VU
STRASBOURG, le 30 Janvier 1963
LE PRESIDENT DE THESE
Prof. P.MANDEL

VU
STRASBOURG, le 30 Janvier 1963
LE DOYEN DE LA FACULTE DE MEDECINE
Prof. R. FONTAINE

VU ET PERMIS D'IMPRIMER
STRASBOURG, le 2 Février 1963
LE RECTEUR DE L'ACADEMIE
PRESIDENT DU CONSEIL DE L'UNIVERSITE
J.F.ANGELLOZ

B I B L I O G R A P H I E

ASTWOOD, E.B., SULLIVAN, J., BISSEL, A. et TYSCOWITZ, R. (1943). Action of certain sulfonamides and of thiourea on the function of the thyroïd gland of the rat. Enzymology, 32, p.210-225.

BALL, E.G. et COOPER, O. (1957). Oxidation of reduced triphosphopyridine nucleotides as mediated by the transhydrogenase reaction and its inhibition by thyroxine. Proc. Natl. Acad. Sci., 43, p.357-364.

BEISEL, W.R., ZERZAN Jr., C.J., RUBINI, M.E. et BLYTHE, W.B. (1958). Phosphaturesis : a direct renal effect of triiodothyronine. Am. J. Physiol., 195, p.357-361.

BELOVA, I.P. (1959). Histochemical investigations of the thyroïd gland in the process of its destruction by radioactive iodine-131. Arkh. Anat. Gistol. i Embriol., 36, p.22-29.

BISWAS, B.B. et ABRAMS, R. (1962). Incorporation of nucleoside triphosphates into ribonucleic acid by an enzyme extracted from disrupted thymus nuclei. Biochim. Biophys. Acta, 55, p.827-835.

BOIVIN, A. (1948). The two nucleic acids and their function in the constitution and life of bacterial cells. Rev. Can. Biol., 7, p.368-385.

BOSCH, A.J. et HARPER, A.E. (1959). Effect of hyperthyroïdism on liver pyridine nucleotide synthesis. J. Biol. Chem., 234, p.929-93[illegible].

BRACHET, J. (1941). The histochemical detection and the microdetermination of pentosenucleic acids in animal tissue and during embryonic development of amphibians. Enzymologia, 10, p.87-90.

BRACHET, J. (1947). Nucleic acids in the cell and the embryo. Symposia Soc. Exptl. Biol., I. Nucleic acid, p.207-224.

BRONK, J.R. (1960). Some actions of thyroxine on oxidative phosphorylations. Biochim. Biophys. Acta, 37, p.326-336.

BRUCE, H.M. et SCOVITER, H.A. (1957). Effect of destruction of thyroïd tissue by radioactive iodine on reproduction in mice. J. Endocrinol., 15, p.72-82.

BURDON, R.H. et SMELLIE, R.M.S. (1961). The incorporation of uridine-5'-triphosphate into ribonucleic acid by enzyme fractions from Ehrlich ascites carcinoma cells. Biochim. Biophys. Acta, 51, p.153-162.

BUSCH, S., CHAMBON, P., MANDEL, P. et WEILL, J.D. (1962). The effect of partial hepatectomy on the ribonucleic acid polymerase of rat liver. Biochem. Biophys. Res. Communs., 7, p.255-258.

CAMERON, A.T. et CARMICHAEL, J. (1920). Contribution to the biochemistry of iodine. III. The comparative effects of thyroïd and iodine feeding on growth in white rats and in rabbits. J. Biol. Chem., 45, p.69-100.

CASPERSSON, T. (1941). The protein metabolism of the cell. Naturwissenschaften, 29, p.33-43.

CASPERSSON, T. (1947). The relations between nucleic acid and protein synthesis. Symposia Soc. Exptl. Biol., I. Nucleic Acid, p.127-151.

CHENG, P.Y. (1961). Size of rapidly labelled ribonucleic acids in human amnion cells. Biochim. Biophys. Acta, 53, p.235-236.

COMMONER, R.B. et MERCER, F. (1952). The effect of thiouracil on the rate of tobacco mosaic virus synthesis. Arch. Biochem. Biophys., 35, p.278-289.

COOPER, C. et LEHNINGER, A. (1957). Oxidative phosphorylation by an enzyme complex from extracts of mitochondria. IV. Adenosine triphosphatase activity. J. Biol. Chem., 224, p.547-560.

DAVIDSON, J.N. (1947). The distribution of nucleic acids in tissues. Cold Spring Harbor Sympos. Quant. Biol., 12, p.50-59.

DAVIDSON, J.N. et WAYMOUTH, C. (1946). The nucleoprotein of liver cells demonstrated by ultraviolet microscopy. J. Physiol., 105, p.191-196.

DICKENS, F. et SALMONY, D. (1956). Effect of thyroïd hormones in vitro on tissue respiration, oxidative phosphorylation and the swelling of mitochondria. Biochem. J., 64, p.645-651.

DISCHE, Z. (1930). Über einige neue charakteristische Farbreaktionen des thymonuclein säure und eine Mikromethode zur Bestimmung derselben in tierischen organen mit Hilfe dieser Reaktionen. Mikrochem., 2, p.4-32.

EMERSON, G.A., ESSER, B. et PAGE, A.C. (1956). Nutritional studies with rats subjected to thyrotoxic stress. Fed. Proc., 15, p.549.

EMMELOT, P., et BOS, C.J. (1958). Thyroxine-mediated release of diphosphopyridine nucleotide from mitochondrial dehydrogenases. Exptl. Cell Research, 14, p.132-141.

ERSHOFF, B.H. (1947). Effects of liver feeding on growth and ovarian development in the hyperthyroïd rat. Proc. Soc. Exptl. Biol. Med., 64, p.500-503.

GALE, E.F. et FOLKES, J.P. (1954). Effect of nucleic acids on protein synthesis and amino acid incorporation in disrupted staphylococcal cells. Nature, 173, p.1123-1227.

GROS, F., HIATT, H.H., GILBERT, C., KURLAND, G., RISEBROUGH, R.W. et WATSON, J.D. (1961). Unstable ribonucleic acid revealed by pulse labelling of Escherichia Coli. Nature, 190, p.581-586.

GRUNBERG-MANAGO, M. et OCHOA, S. (1955). Enzymatic synthesis and breakdown of polynucleotides : polynucleotide phosphorylase. J. Am. Chem. Soc., 77, p.3165-3166.

HAMMET, F.S. (1962). The effect of thyro-parathyroïdectomy and parathyroïdectomy at 100 days of age on the growth of male albino rats. Am. J. Physiol., 63, p.408-414.

*HERLANT, M. (1949). Dans Ann. Endocrinol., 10, p.313.

HEWITT, J.A. (1920). The effect of administration of small amounts of thyroïd gland on the size and weight of certain organs in the male white rat. Quart. J. Exp. Physiol., 12, p.347-354.

HIATT, H.H. (1962). A rapidly labelled RNA in rat liver Nuclei. J. Mol. Biol., 5, p.217-229.

HILMOE, R.J. et HEPPEL, L.A. (1957). Polynucleotide phosphorylase in liver nuclei. J. Am. Chem. Soc., 79, p.4810-4811.

HOAGLAND, M.B., ZAMECNIK, P.C. et STEPHENSON, M.L. (1957). Intermediate reaction in protein biosynthesis. Biochim. Biophys. Acta, 24, p.215-216.

*HOSKINS, E.K. (1916). J. Exp. Zool., 21, p.295.

INGLE, D.J. et GRIFFITH, J.Q. (1949). Surgery of the rat, dans The Rat, 2ème Edition, p.434, Lippincott Co., Philadelphie.

ISCOUESCO, H. (1913). Action physiologique en particulier sur la croissance d'un lipoïde extrait de la thyroïde. C.R. Soc. Biol., 75, p.361-363.

JEENER, R. et ROSSEELS, J. (1953). Incorporation of 2-thiouracil-^{35}S in the ribose nucleic acid of tobacco mosaic virus. Biochim. Biophys. Acta, 11, p.438.

JACOB, F. et MONOD, J. (1961). Genetic regulatory mechanisms in the synthesis of proteins. J. Mol. Biol., 3, p.318-356.

KALCKAR, H.M. (1947). The biological synthesis of purine compounds. Symposia Soc. Exptl. Biol., I. Nucleic acid, p.38-55.

KENDALL, E.C. (1915). The isolation in cristalline form of the compound containing iodine which occurs in the thyroïd ; its chemical nature and physiological activity. Tr. Assn. Am. Phys., 30, p.420-449.

KLEINSORG, H. et LOESER, A. (1949). The thyroïd and renal hypertrophy after unilateral nephroctomy. Arch. Intern. Pharmacodyham., 79, p.83-96.

KLEMPERER, H.G. (1957). Adenosinetriphosphatase activity of rat liver mitochondria. Biochim. Biophys. Acta, 23, p. 404-412.

KORENCHEVSKY, V. et HALL, K. (1944). Histological changes in the liver and kidneys of the rat after administration of thyroïd hormone and vitamines. J. Pathol. Bacteriol., 56, p.543-554.

KORNBERG, A., LIEBERMAN, I. et SIMMS, E.S. (1955). Enzymic Synthesis of purine nucleotides. J. Biol. Chem., 215, p.417-427.

LARDY, H.A. (1957). dans Hormonal Regulation of Energy metabolism, p.45. Kinsell et Thomas Ed., Springfield.

LARDY, H.A. et FELDOTT, G. (1951). Metabolic effects of thyroxine in vitro. Ann. N.Y. Acad. Sci., 54, p.636-648.

LEBLOND, C.P. et CARRIERE, R. (1955). The effect of growth hormone on the mitotic rate of the intestinal mucosa of the rat. Endocrinology, 56, 261-266.

LE BRETON, E., JACOB, A., VAN HUNG LE et REMOLINA, T. (1959). Etude des effets de la thyroxine activée sur la glycolyse [illegible] aérobie des coupes de foie de rat en milieu complet (LePage). Mécanisme d'action de l'hormone. C.R. Ac. Sc., 249, p.769-771.

LOOMIS, W.F. et LIPMANN, F. (1948). Reversible inhibition of the coupling between phosphorylation and oxidation. J. Biol. Chem., 173, p.807-808.

MacKAY, E.M., SMITH, F.M. et CLOSS, K. (1933). Factors which determine renal weight. XIII. The heat production of the rat as varied by thyroid administration. J. Nutrit., 6, p.151-156.

MacKENZIE, C.G. et MacKENZIE, J.B. (1943). Effect of sulfonamides and thiourea on the thyroid gland and basal metabolism. Endocrinology, 32, p.185-209.

MacQUEEN-WILLIAMS, M. et THOMSON, K.W. (1940). The effect of ablation of the hypophysis upon the weight of the kidney of the rat. Yale J. Biol. Med., 12, p.531-541.

MACHEBOEUF, M. et DELSAL, J. (1943). Sur le dosage de très petites quantités de phosphore dans des matières organiques. Bull. Soc. Chim. Biol., 25, p.116-120.

*MAGNUS-LEVY, A. (1895). Berl. Klin. Wschr., 32, p.650.

MALEY, G.M. et LARDY, H.A. (1955). Efficiency of phosphorylating selected oxidations by mitochondria from normal and thyrotoxic rat livers. J. Biol. Chem., 215, p.377-388.

MANDEL, L. (1955). Thèse d'Etat de Doctorat ès-Sciences, Strasbourg.

MANDEL, L., WINTZERITH, M., JACOB, M., PEREY, M. et MANDEL, P. (1957). Evolution des acides ribonucléiques du rein au cours de l'hypertrophie rénale compensatrice. C.R. Soc. Biol., 156, p.993-996.

MANDEL, L., WINTZERITH, M. et MANDEL, P. (1960). Action du propylthiouracile sur l'évolution biochimique de l'hypertrophie rénale compensatrice. C.R. Soc. Biol., 154, p.2125-2128.

MANDEL, P., JACOB, M. et MANDEL, L. (1950). Etude sur le métabolisme des acides nucléiques. I. Action du jeûne protéique prolongé sur les deux acides nucléiques du foie, du rein et du cerveau. Bull. Soc. Chim. Biol., 32, p.80-85.

MANDEL, P., MANDEL, L. et JACOB, M. (1948). Sur le comportement comparé au cours du jeûne protéique prolongé des deux acides nucléiques des tissus animaux et sur sa signification. C.R. Ac. Sc., 226, p.2019-2022.

MANDEL, P., MANDEL, L. et JACOB, M. (1950). Evolution des acides nucléiques au cours de l'hypertrophie rénale compensatrice. C.R. Ac. Sc., 230, p.786-788.

MANDEL, P., MANDEL, L. et JACOB, M. (1951). Action de la thyroxine sur les acides nucléiques du rein chez le rat. C.R. Ac. Sc., 232, p.1513-1515.

MANDEL, P., REVEL, M., WEILL, J.D., BUSCH, S. et CHAMBON, P. (1962). Study of the Biosynthesis of RNA in rat cell nuclei. Biochem. J., 84,. Proceedings of the Biochemical Society, the 418th Meeting p.30.

MARTIUS, C. et HESS, B. (1951). The mode of action of thyroxin. Arch. Biochem., 33, p.486-487.

MARTIUS, C. et HESS, B. (1955). Uber den Wirkungs mechanismus des Schilddrusenhormons. Biochem. Z., 326, p.191-203.

MEJBAUM, V.V. (1945). Dosage des pentoses dans les nucléotides et les nucléosides par la réaction de Bial. Biokhimiya, 10, p.353-357.

NIEMEYER, H., CRANE, R.K., KENNEDY, E.P. et LIPMANN, N.F. (1951). Observation on respiration and phosphorylation with liver mitochondria of normal, hypo- and hyperthyroïd rats. Fed. Proc., 10, p.229.

NIRENBERG, M.N., MATTHAEI, J.H. et JONES, O.W. (1962). An intermediate in the biosynthesis of polyphenylalanine directed by synthetic template RNA. Proc. Natl. Ac. Sci., 48, p.104-108.

PARDEE, A.B. (1954). Nucleic acid precursors and protein synthesis. Proc. Natl. Acad. Sci., 40, p.263-270.

PHILLIPS, A.H. et LANGDON, R.G. (1956). Influence of thyroxine and other hormones on hepatic triphosphopyridine nucleotide (TPN) cytochrome reductase activity. Biochim. Biophys. Acta, 19, p.380-382.

PITT-RIVERS, R. et TATA, J.R. (1959). The thyroïd hormones. 247 pp. Pergamon Press, Londres.

PLUMMER, H.S. (1921). Interrelationship of function of the thyroïd gland and of its active agent, thyroxin, in the tissues of the body. J. Am. Med. Assoc., 77, p.243-247.

POTTER, G.D., TAUROG, A. et CHAIKOFF, I.L. (1956). The iodine-131-irradiated rat thyroïd : its altered response to various stimuli and the changes induced in its iodine metabolism. Endocrinology, 59, p.12-26.

PRESCOTT, D.M. (1960). Regulatory processes in cells. Ann. Rev. Physiol., 22, p.17-34.

PRICE, W.H. (1952). Phage formation in staphylococcus muscae cultures. XI. Synthesis of ribonucleic acid, deoxyribonucleic acid and protein in uninfected bacteria. J. Gen. Physiol., 35, p.741-759.

REVEL, M. et MANDEL, P. (1962). Effect of an induced synthesis of pyridine nucleotides in vivo on the metabolism of ribonucleic acid. Cancer Research, 22, p.456-462.

RICHTER, C.P. et CLISBY, K.N. (1942). Toxic effects of bitter-fasting phenylthiocarbamide. Arch. Path., 33, p.46-57.

ROWLANDS, I.W. (1945). Further experiments on the restoration and maintenance of growth after thyroïdectomy. J. Endocrinol., 4, p.305-311.

SCHMIDT, G. et THANNHAUSER, S.J. (1945). A method for the determination of deoxyribonucleic acid, ribonucleic acid and phosphoproteins in animal tissues. J. Biol. Chem., 161, p.83-88.

SELYE, H., TONE, H., NIELSEN, K. et LEBLOND, C.P. (1945). Studies concerning the effects of various hormones upon renal structure. Can. Med. Assoc. J., 52, p.571-582.

SEVERIN, S.E. et YANG Fu-Yu, (1961). Oxidative phosphorylation in thyrotoxicosis. Biokhimiya, 25, p.661-667.

SIEKEVITZ, P. (1952). Uptake of radioactive alanine in vitro into the proteins of rat liver fractions. J. Biol. Chem. 195, p.549-565.

SOKOLOFF, L. et KAUFMAN, S. (1961). Thyroxine stimulation of amino-acid incorporation into protein. J. Biol. Chem., 236, p.795-803.

SOKOLOFF, L., KAUFMAN, S. et GELBOIN, H.R. (1961a). Thyroxine stimulation of soluble ribonucleic acid bound amino acid transfer to microsomal protein. Biochim. Biophys. Acta, 52, p.410-412.

SPIEGELMAN, S., HALL, B.D. et STORCK, R. (1961). The occurrence of natural DNA-RNA complexes in E.Coli infected with T2. Proc. Natl. Acad. Sci., 47, p.1135-1141.

SPIRO, M.J. et BALL, E.G. (1958). A comparison of the pathways of glucose catabolism in the normal and hyperthyroïdic rat. J. Biol. Chem., 231, p.31-40.

SPIRTES, M.A., MEDES, G. et WEINHOUSE, S. (1953). A study of acetate metabolism and fatty acid synthesis in liver slices of hyperthyroïd rats. J. Biol. Chem., 204, p.705-713.

TAPLEY, D.F. et COOPER, C. (1956). The effect of thyroxine and related compounds on oxidative phosphorylation. J. Biol. Chem., 222, p.341-349.

VALORI, P. (1949). Effect of thyroïdectomy on the hypertrophy and metabolic activity of kidney following unilateral nephrectomy. Arch. Fisiol., 48, p.196-203.

VENDRELY, R. (1946). dans Symposium sur les protéines, Masson, Paris.

WALTER, F. et ADDIS, T. (1939). Organ work and organ weight. J. Exp. Med., 69, p.467-483.

WEILL, J.D. (1958). Thèse d'Etat de Doctorat ès-Sciences, Strasbourg, 176 pp.

WEILL, J.D., CHAMBON, P. et MANDEL, P. (1962). Communication personnelle.

WEISS, S.B. (1960). Enzymatic incorporation of ribonucleoside triphosphates into the interpolynucleotide linkages of ribonucleic acid. Proc. Natl. Acad. Sci., 46, p.1020-1030.

WILLIER, B.H., WEISS, P.A. et HAMBURGER, V. (1955). dans Ontogeny of endocrine relationship in analysis of development. Saunders Ed., Philadelphie et Londres.

WOLFF, J. (1962). The effect of thyroxine on isolated deshydrogenases. J. Biol. Chem., 237, p.230-242.

YANKOFSKY, S.A. et SPIEGELMAN, S. (1962). The identification of the ribosomal RNA cistron by sequence complementarity. Proc. Natl. Acad. Sci., 48, p.1466-1470.

ZAMECNIK, P.C. et KELLER, B. (1954). Relation between phosphate energy donors and incorporation of labelled amino acids into proteins. J. Biol. Chem., 209, p.337-353.

*Travaux qui n'ont pas été consultés dans l'original.

TABLE DES MATIERES

Avant-Propos

Introduction 1

Méthodes et techniques 5

A. Choix des animaux 5

B. Conditions expérimentales 6

1) Etude de l'hyperthyroïdie 6

2) Etude de l'hypothyroïdie 6

C. La thyroïdectomie radio-chirurgicale 7

D. La néphrectomie 8

E. Isolement des acides nucléiques du rein 8

F. Dosage des acides nucléiques et détermination de leur radioactivité 9

G. Justification des méthodes employées 11

H. Expression des résultats 12

Recherches personnelles 13

Chapitre 1 13

Résultats 14

Discussion . . . . .

Chapitre 2 . . . . .

Résultats 23

Discussion 26

1) La réalisation de l'hypothyroïdie et les méthodes employées 26

2) Les effets de l'hypothyroïdie 29

Discussion 33

Résumé et conclusions 47

Bibliographie 50